

Atividade Antimicrobiana *In Vitro* de Extratos Alcoólicos de Própolis contra *Elsinoe ampelina*

In vitro antimicrobial activity of propolis alcoholic extracts against *Elsinoe ampelina*

MARINI, Deniele. Unioeste.denielemarini@yahoo.com.br. KOTZ, Tailene. Unioeste.taileneelisa@hotmail.com. DARTORA, Janaína. Unioeste. dartora_janaina@hotmail.com. FREIBERGER, Mariângela. Unioeste. maia_bf@yahoo.com.br. PAULETTI, Daiana. Unioeste.daiana_pauletti@hotmail.com. STANGARLIN, José Renato. Unioeste. jrstangarlin@unioeste.br.

Resumo

O principal método de controle para patógenos da videira é a aplicação de fungicidas. Dessa forma, a adoção de métodos alternativos de controle pode reduzir os custos de produção e minimizar os resíduos químicos nos frutos. Objetivou-se com este trabalho verificar a fungitoxicidade *in vitro* de extratos alcoólicos de própolis (EAP) sobre o crescimento micelial e esporulação de esporos de *Elsinoe ampelina* (antracnose). O EAP foi utilizado nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,5 e 1,0%, diluídas com caldo de batata. As testemunhas foram o meio de cultura BDA, BDA + 1% de etanol a 70% e o fungicida azoxystrobin (0,08 g i.a. L⁻¹). Na esporulação de *E. ampelina*, o fungicida e a concentração de 0,5% de EAP foram os tratamentos mais eficientes, porém sem diferença estatística entre si. No ensaio de crescimento micelial, a inibição média causada por EAP foi de 15%, inferior à inibição de 48% causada pelo fungicida.

Palavras-chave: Antracnose, crescimento micelial, esporulação.

Abstract

The control of vine pathogens is based on the use of fungicides. Alternative methods for the control of diseases can reduce production costs and minimize the chemical residues in grapes. The objective of this work was to verify the effect of alcoholic extracts of propolis (AEP) on the mycelial growth and sporulation of Elsinoe ampelina (anthracnose) in vitro. The AEP concentrations used were 0.05; 0.1; 0.2; 0.4; 0.5 and 1.0%, diluted with potato broth. Control treatments were the potato-dextrose-ágar (PDA) medium, PDA + 1% ethanol at 70% and fungicide azoxystrobin (0.08 g a.i. L⁻¹). For the inhibition of spore production of E. ampelina, the fungicide and the concentration of 0.5% of AEP were the most efficient, however, with no statistical difference. To mycelial growth, the average of inhibition caused by AEP was 15%, less than the 48% inhibition caused by the fungicide.

Keywords: Anthracnose, mycelial growth, sporulation.

Introdução

A videira é uma das frutíferas mais importantes cultivadas comercialmente no Brasil, tanto no aspecto econômico quanto no social. Dessa forma, a qualidade fitossanitária é de suma importância. As doenças que incidem sobre a videira reduzem a qualidade, a produção e promovem a elevação dos custos de produção. A maioria das doenças é causada por fungos que afetam a parte aérea das plantas (DIAS et al., 1998), dentre elas a antracnose, causada pelo fungo *Elsinoe ampelina* (De Bary) Shear (AMORIM e KUNIYUKI, 2005).

O controle dessas doenças é realizado principalmente por aplicação de defensivos agrícolas, o uso intensivo e indiscriminado destes em longo prazo tem causado diversos problemas, como a seleção de patógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas e aspectos negativos para sociedade e ambiente, devido à poluição causada pelos resíduos (SCHWAN-ESTRADA e

STANGARLIN, 2005).

O controle alternativo de doenças de plantas inclui o uso de produtos naturais com atividade indutora de resistência e/ou com atividade antimicrobiana direta, um exemplo é o uso de extratos vegetais e microbianos (STANGARLIN et al., 2008). A própolis é uma resina composta de óleos voláteis e ácidos aromáticos, ceras, resinas, bálsamos, pólen e elementos essenciais, além de flavonóides, ácidos fenólicos, ésteres, aldeídos fenólicos e cetonas, considerados importantes compostos antimicrobianos. A proporção destas substâncias presentes na própolis é variável em função do local e da época de coleta da mesma (STEPANOVIC et al., 2003). Os estudos sobre as propriedades antibióticas da própolis têm sido conduzidos, sobretudo na área médica e veterinária (GARCIA et al., 2004; FERNANDES JÚNIOR et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi verificar a fungitoxidade *in vitro* de extratos alcoólicos de própolis sobre o patógeno *E. ampelina*.

Metodologia

Os ensaios foram realizados na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Marechal Cândido Rondon. Conídios de *E. ampelina* foram coletados de frutos com sintomas e a partir destes, isolou-se e cultivou-se o patógeno em meio BDA (batata-dextrose-água), em temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 16 h de luz. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e de regressão ao nível de 5% de probabilidade. Dados em percentagem foram submetidos à transformação por raiz quadrada de $x + 0,5$. Foi utilizada própolis na sua forma bruta, obtida de colméias de *Apis mellifera*, no período de março e abril de 2007. O EAP foi preparado segundo metodologia de Garcia et al. (2004) e incorporado em meio de cultivo BDA nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,5 e 1,0% (diluído com caldo de batata) já autoclavado (STANGARLIN et al., 1999). A esporulação foi avaliada após o término da avaliação do crescimento micelial, conforme metodologia de Franzener et al. (2003). As testemunhas foram o meio de cultura BDA, BDA + 1% de etanol a 70% e o fungicida azoxystrobin (0,08 g i. a. L⁻¹).

Resultados e discussões

A análise das médias dos tratamentos no ensaio de esporulação de *E. ampelina* demonstrou que o fungicida e a concentração de 0,5% de EAP apresentaram tendência de serem mais eficientes, porém, semelhantes às outras concentrações de EAP e à testemunha meio BDA + 1% de etanol 70% (Tabela 1). A regressão para as concentrações de EAP não foi significativa, no entanto, o teste de médias mostra que o EAP tem efeito inibitório na esporulação, assim como o etanol.

TABELA 1. Efeito de extrato alcoólico de própolis na esporulação *in vitro* de *Elsinoe ampelina*.

Tratamentos	Esporulação (esporos x 10 ⁴ / mL)
Meio BDA	181,95 b**
Meio BDA + 1% etanol 70%	70,61 ab
Fungicida (azoxystrobin 0,08 g i.a. L ⁻¹)	1,15 a
Extrato alcoólico de própolis*	30,68 ab
Extrato alcoólico de própolis 0,5 %	10,84 a
Coeficiente de variação (%)	146,49

* Média de todas as concentrações;

** Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade.

Resumos do VI CBA e II CLAA

Para o ensaio de inibição de crescimento micelial (Tabela 2), observa-se que na análise das médias o fungicida foi o tratamento que proporcionou maior inibição do crescimento da colônia de *E. ampelina*. De forma geral, o aumento das concentrações de EAP resultou em menor diâmetro das colônias de *E. ampelina*, com média de 15% de inibição, porém, de forma menos eficiente que o fungicida, com 48% de inibição. A regressão para as concentrações de EAP foi significativa para um modelo de regressão linear ($R^2=0,86$) (dado não demonstrado).

TABELA 2. Crescimento micelial de *Elsinoe ampelina* em presença de diferentes concentrações de extrato alcoólico de própolis (EAP)

Tratamentos	Crescimento Micelial (cm)
Fungicida (azoxystrobin 0,08 g i.a. L ⁻¹)	3,33 a*
EAP 1%	4,96 b
EAP 0,5 %	5,40 b
EAP 0,40%	5,55 b
EAP 0,20%	6,05 b
EAP 0,10 %	6,44 b
EAP 0,05 %	5,92 b

* Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade quando comparadas individualmente com o tratamento fungicida (azoxystrobin 0,08 g i.a. L⁻¹).

Na literatura encontram-se poucos trabalhos utilizando própolis em vegetais, principalmente no controle de doenças fúngicas. Bianchini e Bedendo (1998) estudaram o efeito antibiótico de extrato aquoso de própolis, nas concentrações de 0,1, 1,0 e 10%, sobre cinco espécies de bactérias fitopatogênicas. Albano et al. (2007), em ensaio com sementes de feijão tratadas com extrato de borra de própolis a 25%, 50%, 75% e 100%, observaram inibição de patógenos comuns ao processo de armazenamento.

Embora neste trabalho o EAP tenha demonstrado baixa atividade antifúngica, não se descarta a realização de ensaios futuros com as mesmas concentrações aqui testadas, visando verificar o efeito indutor de resistência do mesmo em videiras para controle da antracnose.

Conclusões

Não foi possível confirmar efeito antifúngico *in vitro* de própolis contra *E. ampelina* nas doses testadas.

Referências

- ALBANO, E.M.S. et al. Avaliação da ação do extrato da borra da própolis no controle de sanidade de sementes de feijão. *Fitopatologia Brasileira*, Lavras, v. 32, 147 p., 2007. (Suplemento)
- AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da Videira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. (Eds). *Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas*. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2, p. 639-651.
- BIANCHINI, L.; BEDENDO, I.P. Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitopatogênicas. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 55, p. 149-152, 1998.
- DIAS, M.S.C.; SOUZA, S.M.C. de; PEREIRA, A.F. Principais Doenças da Videira. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 76-84, 1998.

Resumos do VI CBA e II CLAA

FERNANDES JÚNIOR, A. et al. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 294-297, 2006.

FRANZENER, G. et al. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 25, n. 2, p. 503-507, 2003.

GARCIA, R.C. et al. Efeito do Extrato Alcoólico de Própolis sobre a *Pasteurella multocida* “*in vitro*” e em Coelhos. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, v. 26, n. 1, p. 69-77, 2004.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e Óleos Essenciais de Plantas Medicinais na Indução de Resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). *Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos*. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 125-133.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 16, p. 265-304, 2008.

STANGARLIN, J.R. et al. Plantas Medicinais e Controle Alternativo de Fitopatógenos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, v. 2, n. 11, p. 16-21, 1999.

STEPANOVIC, S. et al. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiology Research*, Paris, v. 158, n. 4, p. 353-357, 2003.