

Revista da Universidade Vale do Rio Verde
ISSN: 1517-0276 / EISSN: 2236-5362
v. 16 | n.º. 3 | Ano 2018

Thaila Karoline da Silva

Universidade Vale do Rio Verde (UninCor)
Thailaagro2017@gmail.com

Bruno Gonçalves Borges

Universidade Vale do Rio Verde (UninCor)
brunno_borges.tc@hotmail.com

Aurivan Soares de Freitas

Universidade Vale do Rio Verde (UninCor)
aurivan.soares@hotmail.com

Maria Gilmar de Oliveira Soares

Universidade Federal de Lavras (UFLA)
gilmaraaagronomia@gmail.com

Elaine Jamires Freitas

Universidade Vale do Rio Verde (UninCor)
elainejamires@hotmail.com

Eliana Alcantra

Universidade Vale do Rio Verde (UninCor)
prof.eliana.alcantra@unincor.edu.br

Júnia Rafael Mendonça Figueiredo

Universidade Vale do Rio Verde (UninCor)
prof.junia.figueiredo@unincor.edu.br

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE PRÓPOLIS SOBRE *Colletotrichum* spp. DO ABACATE

RESUMO

O abacate é um fruto de alto valor nutricional rico em vitaminas, proteínas e sais minerais. Entretanto, sua produção é afetada por doenças pós-colheita, sendo a principal delas a antracnose causada por fungos do gênero *Colletotrichum*. Assim, objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito de própolis no crescimento micelial e na germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. Foram testadas cinco doses de própolis: 0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mL L⁻¹. Para a montagem dos ensaios, preparou-se os meios de cultura batata dextrose ágar (BDA) e ágar-água (AA), em seguida, foi incorporado nos mesmos as concentrações de própolis. O meio contendo própolis foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após solidificação, foi transferido para placas disco de micélio (5 mm de diâmetro) e alíquota de 100 µL de conídios para avaliar o crescimento micelial e a germinação de conídios, respectivamente. As avaliações do crescimento micelial foram transformadas em índice de velocidade crescimento micelial (IVCM). O incremento das concentrações de própolis de 0,5 para 2 mL L⁻¹ reduziu o IVCM e a porcentagem de germinação de conídios. O maior IVCM (10,05) e a maior porcentagem de germinação (96%) foram encontrados na concentração de 0 mL L⁻¹ de própolis.

Palavras-Chave: Antracnose. *Persea americana* Mill. Pós-colheita. Controle alternativo. Fungicida.

IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF PROPOLIS IN *Colletotrichum* spp. OF AVOCADO

ABSTRACT

Avocado is a fruit of high nutritional value rich in vitamins, proteins and minerals. However, its production is affected by post-harvest diseases, the main one being the anthracnose caused by fungi of the genus *Colletotrichum*. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of propolis on mycelial growth and on conidial germination of *Colletotrichum* spp. Five doses of propolis were tested: 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mL L⁻¹. To assay the assays, potato-dextrose agar (PDA) and Agar-Water (AW) were prepared, then the concentrations of propolis were incorporated therein. It was then poured into 9 cm diameter Petri dishes. After solidification, the mycelial disc plates (5 mm diameter) and 100 µL aliquot were transferred to the mycelial growth and conidial germination, respectively. The mycelial growth evaluations were transformed into mycelial growth rate index (MGRI). The increase of propolis concentrations of 0.5 to 2 mL L⁻¹ reduced the MGRI and the percentage of conidia germination. The highest MGRI (10.05) and the highest percentage of germination (96%) were found in the concentration of 0 mL L⁻¹ of propolis.

Keywords: Anthracnose. *Persea Americana* Mill. Post-harvest.

Recebido em: 10/10/2018 - Aprovado em: 13/12/2018 - Disponibilizado em: 30/12/2018

1. INTRODUÇÃO

O abacateiro (*Persea americana* Miller), pertencente à família Lauraceae, é originário do continente americano, mas apresenta como centro de diversidade o México e a Guatemala. É uma árvore frutífera tropical, rica em vitaminas, proteínas, lipídeos, fibras solúveis, fitoesteróis e minerais como ferro, cálcio e fósforo (FISCHER et al., 2017).

No Brasil, abacaticultura se desenvolveu a partir de 1970, sendo que em 2017 foi produzido 213.041 toneladas de abacates, em cerca de 13.019 hectares (IBGE, 2018). Em São Paulo, o abacateiro é cultivado em praticamente todos os municípios, concentrando-se em pequenas ou médias propriedades, com área entre 10 e 100 ha (FRANCISCO & BAPTISTELLA, 2005).

O abacateiro é afetado por diversas doenças, que podem ser de origem fúngica, bacteriana, virótica ou causada por nematoides. Essas doenças resultam em perdas significativas na produtividade e na qualidade de frutos (PEGG et al., 2002).

Dentre as doenças que podem afetar o abacateiro, destaca-se a antracnose causada por espécies do gênero *Colletotrichum* (PICCININ et al., 2016), sendo essa a doença pós-colheita mais frequente do abacate no Brasil (TOZZE JÚNIOR et al., 2016).

A antracnose afeta principalmente os frutos, podendo ocorrer nas folhas, flores e ramos. Nos frutos, os sintomas iniciam-se por pequenas pontuações de coloração marrom a preta, que tendem a evoluir, atingindo parte do fruto, ou necrosando-o completamente, podendo ocorrer tanto no período pré como pós-colheita (BARBOSA et al., 2015; PEGG et al., 2002). Dessa forma, a doença causa prejuízos econômicos aos produtores, e diminui o acesso da população a este produto que, por sua vez, é comum na mesa dos brasileiros e também comercializado em escala mundial, sendo necessário realizar o controle fitossanitário.

O controle da antracnose é realizado ainda no campo, por meio de adubação equilibrada e aplicação de fungicidas. Além disso, devem ser empregadas outras estratégias de manejo em pós-colheita, como uso de embalagens apropriadas e cuidado durante o transporte (CRUZ et al., 2010).

A aplicação de fungicidas é realizada duas à três vezes no pomar entre o florescimento e a frutificação (PEGG et al., 2002). No entanto, essa prática além de favorecer o desenvolvimento de resistência dos patógenos, provoca risco de contaminação ao ambiente e ao homem (CRUZ et al., 2010). Dessa forma, estudos têm buscado formas alternativas de controle dessa doença. Dentre essas alternativas, destaca-se a aplicação de própolis, visto que é um produto com propriedades antifúngicas, devido à presença de várias substâncias como os

flavonoides (BARBOSA et al., 2015; MARINI et al., 2012).

No entanto, até o presente momento, estudos que objetivaram avaliar o efeito de própolis no crescimento micelial e na germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. do abacateiro são escassos. Diante da necessidade de maiores informações sob medidas de controle alternativo da antracnose do abacateiro, objetivou-se com esse trabalho avaliar o potencial *in vitro* de própolis no crescimento micelial e na germinação de conídios de *Colletotrichum* spp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido *in vitro* nos Laboratórios de Microbiologia e Pesquisa I da Universidade Vale do Rio Verde (UninCor), campus de Três Corações, Minas Gerais.

2.1 Obtenção do isolado

Colletotrichum spp. foi isolado a partir de frutos de abacateiro. Pequenos fragmentos lesionados foram desinfestados em álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio a 2% por 1 minuto, lavados com água destilada e esterilizada por três vezes e secos em papel de filtro esterilizado. Em seguida, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri, contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar - BDA (9,75g de BDA, 20 g de ágar e 1.000 mL de água destilada) e mantidos em câmara de crescimento (BOD) a 25°C com fotoperíodo de 12 horas.

2.2. Avaliação do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp.

O crescimento micelial foi avaliado em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e própolis. A própolis (Tintura de própolis®) foi adicionado ao meio, nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mL L⁻¹, constituindo cinco tratamentos e quatro repetições. Cada repetição constituiu por uma placa de Petri. Em seguida, o meio de cultura foi vertido em placas de Petri com 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio de cultura, foi depositado no centro de cada placa um disco de micélio (5 mm de diâmetro) do fungo. Logo após, as placas foram vedadas com papel filme e incubadas em BOD a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas, diariamente, durante sete dias, medindo-se com paquímetro o diâmetro das colônias em dois sentidos, de forma ortogonal. O índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) foi calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962) e adaptada por Oliveira (1991): $IVCM = \frac{\sum(D-Da)}{N}$. Em que: IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial; \sum =somatório; D= diâmetro médio atual; Da= diâmetro médio do dia anterior e N=número de dias após a deposição do micélio.

2.2 Avaliação da germinação de conídios de *Colletotrichum* spp.

Para obter conídios, adicionaram-se 10 mL de água destilada esterilizada, em cada placa de Petri e com bastão de vidro, previamente, esterilizado procedeu-se à liberação dos conídios a partir do micélio seco. A suspensão obtida foi

filtrada em gaze e a concentração ajustada para 2×10^6 , utilizando hemacitômetro, estabelecendo-se média de 4 leituras.

Foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, com 9 mL de meio ágar-água fundente e 1 mL das concentrações: 0, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mL L⁻¹ de própolis.

Após a solidificação do meio, em cada placa, foram depositadas alíquotas de 100 µL da suspensão e espalhadas com alça de Drigalsky. Depois as placas foram vedadas com papel filme e incubadas em BOD a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. Após 12 horas, as placas foram retiradas da BOD e a germinação dos conídios foi paralisada aplicando-se em cada placa duas gotas de lactoglicerol.

Em seguida, foi feita a contagem dos conídios germinados em microscópio óptico. Para cada repetição, foram contados 100 conídios, totalizando 400 conídios por tratamento. Considerou-se conídio germinado aquele que apresentou o comprimento do tubo germinativo maior ou igual ao diâmetro do conídio. Com o número total de conídios contados (germinados e não germinados), estimou-se a porcentagem de conídios germinados.

2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância a nível de 5% de probabilidade. As variáveis significativas foram submetidas ao ajuste de modelos de regressão. As análises foram realizadas utilizando o software Sisvar (FERREIRA, 2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento micelial de *Colletotrichum* spp.

O crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. foi significativamente influenciado pela concentração de própolis no meio de cultura. A maior porcentagem de germinação (96%) foi encontrada na ausência de própolis. O incremento das concentrações de própolis de 0,5 para 2 mL L⁻¹ reduziu linearmente o índice de crescimento micelial. Dessa forma, pode-se observar que o crescimento da colônia foi inversamente proporcional à concentração de própolis aplicada (Figura 1).

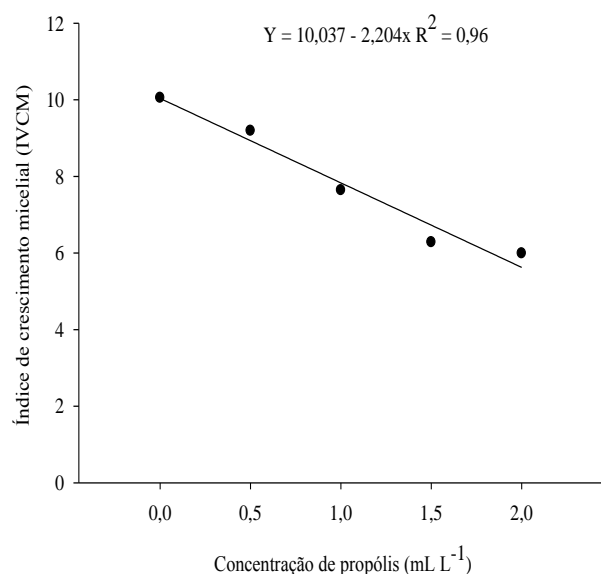


Figura 1 – Índice de crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. com diferentes concentrações de própolis.

Resultados diferentes foram encontrados em outros trabalhos. Barbosa et al. (2015) constataram baixa influência de própolis sob *C. musae* da banana. Machado et al. (2015), também relataram baixa eficiência de

própolis sobre *Lasiodiplodia theobromae* e *C. gloeosporioides* da manga. Para Barbosa et al. (2015), a divergência na eficiência de própolis deve-se em parte a sua origem, pois essa substância possui composição química complexa que estar relacionada com a flora fornecedora de recursos às abelhas (MARCUCCI, 1995).

3.2 Germinação de conídios de *Colletotrichum* spp.

A germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. foi significativamente influenciada pela concentração de própolis no meio de cultura. A maior porcentagem de germinação (99%) foi encontrada na ausência de própolis, corroborando com os dados de crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. obtidos nesse trabalho, o que afirma a eficiência da própolis em inibir o crescimento desse fungo. O incremento das concentrações de própolis de 0,5 para 2 mL L⁻¹ reduziu linearmente a porcentagem de germinação de conídios, sendo que na maior concentração houve redução de 96% na redução da germinação (Figura 2).

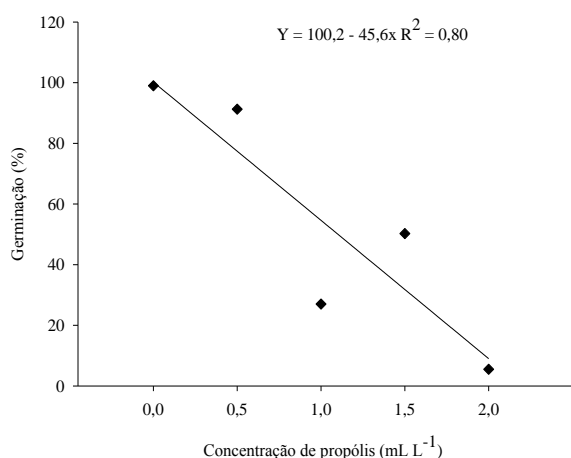


Figura 2 – Porcentagem de germinação de *Colletotrichum* spp. em diferentes concentrações de própolis.

Resultados semelhantes a esse foram encontrados quando a própolis foi utilizada para inibição da germinação de uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*, agente etiológico da ferrugem no cafeeiro. Nesse trabalho, a partir da concentração de 1 mL L⁻¹ a germinação dos esporos foi fortemente inibida, chegando a inibir aos 2,0 mL L⁻¹ 99% germinação dos esporos (PEREIRA et al., 2007). Esses resultados demonstram o potencial antifúngico da própolis, podendo ser eficiente no controle pós-colheita da antracnose em abacate.

4. CONCLUSÃO

A maior dosagem de própolis promoveu o menor índice de crescimento micelial e a menor germinação de conídios, apresentando potencial de controle *in vitro* de *Colletotrichum* spp.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. S.; VIEIRA, G.H.C.; TEIXEIRA, A. V. Atividade biológica *in vitro* de própolis e óleos essenciais sobre o fungo *Colletotrichum musae* isolado de bananeira (*Musa* spp.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.17, n. 2, pp. 254-261, 2015.
- CRUZ, M. J. D. S.; CLEMENTE, E.; CRUZ, M. E. D. S.; MORA, F.; COSSARO, L.; PELISSON, N. Effects of bioactive natural compounds on the postharvest conservation of mango fruits cv. Tommy Atkins. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, pp. 428-433, 2010.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Ciência agrotecnologia**. v. 35, n. 6, 2011.
- FISCHER, I.; MORAES, M.; PALHARINI, M.; CRUZ, J.; FIRMINO, A. Ocorrência de antracnose em abacate, agressividade e sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n. 2, p.130-137, 2017.

FRANCISCO, V. L. F. S.; BAPTISTELLA, C. S. L. Cultura do abacate no estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 35, n. 5, p. 27-41, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Lavoura permanente**. 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=sp&tema=lavourapermanente2017>>. Acesso em: 22 nov. 2018.

MACHADO, P. P.; VIEIRA, G. H. C.; MACHADO, R. A. Uso da própolis e óleo de nim no controle dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Colletotrichum gloeosporioides*: principais patógenos que acometem os frutos da manga. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 4, p. 31-37, 2015.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2, n. 2, 1962.

MARINI, D.; MENSCH, R.; FREIBERGER, M. B.; DARTORA, J.; FRANZENER, G.; GARCIA, R. C.; STANGARLIN, J. R. Efeito antifúngico de extratos alcoólicos de própolis sobre patógenos da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo-SP, v. 79, n. 2, p. 305-308, 2012.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, n. 1, p. 83-99, 1995.

PEGG, K. G.; COATES, L. M.; KORSTEN, L.; HARDING, R. M. Foliar, fruit and soilborne diseases. In: **The Avocado: Botany, Production and Uses**. Whiley A.W., Schaffer B. and Wolstenholme B. N. (eds): CAB International, Wallingford, UK, pp. 299-338, 2002.

PEREIRA, C. S.; CARVALHO, S. J. D.; GUIMARÃES, R. J.; POZZA, E. A. **Extrato etanólico de própolis (EEP) na inibição da germinação de uredíniosporos da ferrugem do cafeeiro *Hemileia vastatrix* Berk e Cooke**, 2007.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.)**. Dissertação (Mestrado - área de Concentração em Fitossanidade) - Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, p. 111, 1991.

PICCININ, E.; PASCHOLATE, R. M.; DI PIERO, R. M., BENATO, E. A. Doenças do abacateiro. In: AMORIM, L. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres, p. 1-7, 2016.

TOZZE JÚNIOR, H. J. T.; FIRMINO, A. C. FISCHER, I. H.; FURTADO, E. L.; MASSOLA, N. S. Caracterização da agressividade e atividade enzimática de isolados de *Colletotrichum* spp. associados à antracnose do abacate. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 3, p. 264-267, 2016.

Thaíla Karoline da Silva

Bacharel em Agronomia pela Universidade Vale do Rio Verde (UninCor), Três Corações, Minas Gerais.

Bruno Gonçalves Borges

Bacharel em Agronomia pela Universidade Vale do Rio Verde (UninCor), Três Corações, Minas Gerais.

Aurivan Soares de Freitas

Mestre e doutor em Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Professor na Universidade Vale do Rio Verde (UninCor).

Maria Gilmara de Oliveira Soares

Mestre e doutoranda em Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Elaine Jamires Freitas

Graduanda em Agronomia pela Universidade Vale do Rio Verde (UninCor). Três Corações, Minas Gerais.

Eliana Alcantra

Mestre e doutora em Entomologia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Professora na Universidade Vale do Rio Verde (UninCor).

Júnia Rafael Mendonça Figueiredo

Mestre e doutora em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Professora na Universidade Vale do Rio Verde (UninCor).
