



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO AGRONOMIA**

GISLAINE RIBEIRO GOMES

**AÇÃO ANTIFÚNGICA SOBRE FITOPATÓGENOS E ATIVIDADE DE
ENZIMAS RELACIONADAS A DEFESA EM TRIGO PELO EXTRATO
ETANÓLICO DE PRÓPOLIS**

**LARANJEIRAS DO SUL
2023**

GISLAINE RIBEIRO GOMES

**AÇÃO ANTIFÚNGICA SOBRE FITOPATÓGENOS E ATIVIDADE DE
ENZIMAS RELACIONADAS A DEFESA EM TRIGO PELO EXTRATO
ETANÓLICO DE PRÓPOLIS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de
Agronomia da Universidade
Federal da Fronteira Sul (UFFS),
como requisito para obtenção do
título de bacharel em agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Gilmar
Franzener

**LARANJEIRAS DO SUL
2023**

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Gomes, Gislaine Ribeiro
AÇÃO ANTIFÚNGICA SOBRE FITOPATÓGENOS E ATIVIDADE DE
ENZIMAS RELACIONADAS A DEFESA EM TRIGO PELO EXTRATO
ETANÓLICO DE PRÓPOLIS / Gislaine Ribeiro Gomes. -- 2023.
28 f.:il.

Orientador: Doutor Gilmar Franzener

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Laranjeiras do Sul, PR, 2023.

1. Fitopatologia. 2. Trigo. 3. Doenças fúngicas. 4.
Própolis. I. Franzener, Gilmar, orient. II. Universidade
Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

GISLAINE RIBEIRO GOMES

**AÇÃO ANTIFÚNGICA SOBRE FITOPATÓGENOS E ATIVIDADE DE ENZIMAS
RELACIONADAS A DEFESA EM TRIGO PELO EXTRATO ETANÓLICO DE
PRÓPOLIS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia linha de formação em Agroecologia pela Universidade Federal da Fronteira Sul- *Campus* Laranjeiras do Sul (PR)


Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 27/02/2023.

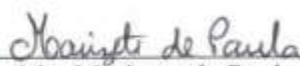
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Gilmar Franzener



Prof. Dr. Roberson Dibax



Ma. Marizete de Paula

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por me permitir vivenciar tudo isso e por me dar forças quando acreditava que não iria conseguir; aos meus pais, por sempre acreditarem em mim, me motivando e apoiando incondicionalmente. Agradeço ao professor Gilmar Franzener por me dar a oportunidade de iniciar na pesquisa, e me encontrar nela; pelos conhecimentos transmitidos, mas principalmente, pela paciência; ao CNPQ, pelas bolsas de pesquisa e IC, que foram fundamentais para meu crescimento na área. Agradeço aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado, em especial a Maevi Fornazari, e que nunca me deixaram desanimar.

RESUMO

A própolis é amplamente conhecida por seus efeitos antimicrobianos e utilizada na área de saúde humana, vem sendo testada no controle a doenças de plantas, porém ainda são poucas as informações sobre sua eficiência. Com isso, esse trabalho teve por objetivo avaliar a ação do extrato etanólico de própolis (EEP) sobre os fitopatógenos do trigo *Pyricularia grisea* (brusone), *Fusarium graminearum* (giberela), *Bipolaris sorokiniana* (helminthosporiose) e *Puccinia triticina* (ferrugem do trigo), doenças fúngicas que afetam a cultura do trigo e ocasionam perdas significativas na produtividade da cultura. O EEP foi obtido por maceração por 15 dias em etanol 70%. Sobre os fitopatógenos foram avaliadas as concentrações de 0, 0,1, 0,5, 1 e 2%, onde foi avaliado o crescimento micelial das colônias, com exceção da ferrugem, onde foi avaliada a germinação de esporos e tamanho dos tubos germinativos, por se tratar de patógeno biotrófico. Em experimento sob casa de vegetação, foi avaliada a atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas em plantas de trigo submetidas a aplicação das concentrações de 0, 0,1, 0,5, 1 e 2% de EEP e nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após aplicação. O EEP apresentou efeito inibitório dose-dependente sobre os fungos *Pyricularia grisea*, *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* e *Puccinia triticina*, embora não houve inibição total do crescimento. Para peroxidases e polifenoloxidasas não houve efeito significativo ($p < 0,05$) pela aplicação da própolis nas diferentes concentrações e tempos analisados. Os resultados demonstram o potencial da própolis no controle de doenças do trigo, bem como a importância de maior compreensão em estudos a campo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*, indução de resistência, doenças fúngicas, derivado apícola.

ABSTRACT

Propolis is widely known for its antimicrobial effects and used in the area of human health, it has been tested in the control of plant diseases, but there is still little information about its efficiency. Thus, this study aimed to evaluate the action of propolis ethanolic extract (EEP) on wheat phytopathogens *Pyricularia grisea* (brusone), *Fusarium graminearum* (hence), *Bipolaris sorokiniana* (helminthosporiosis) and *Puccinia triticina* (wheat rust), fungal diseases that affect the wheat crop and cause significant losses in crop productivity. The EEP was obtained by maceration for 15 days in 70% ethanol. Regarding the phytopathogens, concentrations of 0, 0.1, 0.5, 1 and 2% were evaluated, where the mycelial growth of the colonies was evaluated, with the exception of rust, where the germination of spores and the size of the germ tubes were evaluated, because it is a biotrophic pathogen. In an experiment under a greenhouse, the activity of peroxidases and polyphenoloxidases enzymes was evaluated in wheat plants submitted to the application of concentrations of 0, 0.1, 0.5, 1 and 2% of EEP and in times of 0, 24, 48, 72 and 96 hours after application. EEP showed a dose-dependent inhibitory effect on *Pyricularia grisea*, *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* and *Puccinia triticina*, although there was no total growth inhibition. For peroxidases and polyphenoloxidases there was no significant effect ($p < 0.05$) by the application of propolis in the different concentrations and times analyzed. The results demonstrate the potential of propolis in controlling wheat diseases, as well as the importance of greater understanding in field studies.

Keywords: *Triticum aestivum*, induction of resistance, fungal diseases, bee derivative.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Crescimento micelial de <i>Pyricularia grisea</i> em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis após nove dias de incubação.	16
Figura 2 - Crescimento micelial de <i>Fusarium graminearum</i> em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis após nove dias de incubação.	16
Figura 3 - Crescimento micelial de <i>Bipolaris sorokiniana</i> em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis após nove dias de incubação.	17
Figura 4 - Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) de <i>Pyricularia grisea</i> em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis	18
Figura 5 - Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) de <i>Fusarium graminearum</i> em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis	18
Figura 6 - Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) de <i>Bipolaris sorokiniana</i> em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis.	19
Figura 7 - Germinação de esporos de <i>Puccinia triticina</i> após 6 horas de incubação, em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis.	20
Figura 8 - Tamanho dos tubos germinativos de esporos de <i>Puccinia triticina</i> após 6 horas de incubação, em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis.	20
Figura 9 - Atividade de peroxidases e polifenoloxidasas em folhas de trigo tratadas com diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis.	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
3.1 ATIVIDADE DIRETA SOBRE FITOPATÓGENOS	15
3.2 ATIVIDADE DE ENZIMAS RELACIONADAS A DEFESA	21
4 CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS	24

Esse Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi elaborado em forma de artigo científico seguindo as normas da Revista de Ciências Agroveterinárias (UDESC), de acordo com o Anexo.

1 INTRODUÇÃO

Na proteção de plantas contra doenças, pragas e plantas daninhas, tem chamado atenção e demandado crescente busca por alternativas sustentáveis que reduzam o uso de produtos químicos, visto que, fungicidas, apesar de eficientes para determinados fitopatógenos em um curto período de tempo, podem ser pouco eficientes a longo prazo e ainda induzir a seleção de indivíduos resistentes, além de promover contaminações ambientais e alimentares devido aos resíduos deixados (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

O extrato etanólico de própolis, já bastante conhecido por seus efeitos antimicrobiano (LONGHINI et al., 2007), citotóxico e anti-inflamatório (PEREIRA et al., 2002) vem sendo estudado como um produto alternativo de controle a doenças de plantas. Apesar de ser utilizado com frequência em tratamentos de seres humanos, pouco se sabe sobre seu potencial uso para a agricultura (YANG et al., 2011). Algumas pesquisas apontam que o extrato apresenta resultados significativos no controle a doenças em algumas culturas, no caso do trigo (*Triticum aestivum* L.) as informações ainda são escassas, não se sabe quais os efeitos exercidos sobre os patógenos e nem se é capaz de induzir resistência na planta.

Culturas como o trigo enfrentam problemas severos com a incidência de doenças que, quando não controladas, podem causar perdas expressivas na produção e na qualidade dos grãos. Algumas das principais doenças que acometem a parte aérea da cultura são brusone (*Pyricularia grisea*), giberela (*Fusarium graminearum*), helmintosporiose (*Bipolaris sorokiniana*) e ferrugem do trigo (*Puccinia triticina*), doenças de difícil controle e fortemente danosas (REIS; CASA, 2016).

A doença causada pelo fungo *Pyricularia grisea*, conhecida como brusone afeta as espigas e aparece em forma de lesões escuras sobre as ráquis, indicando o ponto de infecção do fungo, causando o branqueamento da espiga a partir do local de infecção em direção às pontas, isso acontece devido a morte dos tecidos. Podem aparecer lesões elípticas de coloração acinzentada sobre a face superior das folhas de plantas contaminadas (REIS; CASA, 2016).

A giberela (*Fusarium graminearum*) infecta a flor, se espalhando por toda a espiga, podendo nem permitir a formação da mesma em casos severos. Se a colonização

for lenta, os grãos podem apresentar defeitos como enrugamento, grãos chochos, ásperos e róseos. Nas espiguetas, o fungo provoca anasarca, ocasionando a despigmentação das mesmas, apresentando um aspecto esbranquiçado ou cor de palha. Outra característica bastante conhecida da doença é o arrepiamento das aristas. As condições que favorecem a doença são clima úmido e quente e sua disseminação se dá através do vento, respingos de chuva, restos culturais e sementes contaminadas (REIS; CASA, 2016).

A helmintosporiose (*Bipolaris sorokiniana*), também chamada de mancha marrom, causa leões necróticas de coloração parda nas folhas, sendo nas regiões mais frias com coloração mais escuras e de formato retangular e, em regiões mais quentes, de coloração cinza e elípticas. Nas sementes infectadas, pode-se observar a ponta do escudete de coloração escura. As condições que favorecem a doença são clima úmido e temperaturas acima dos 18°C; sua disseminação se dá através do vento, restos culturais, respingo de chuva e sementes contaminadas (REIS; CASA, 2016).

A ferrugem da folha do trigo (*Puccinia triticina*), apresenta um sintoma bastante característico, que são pontuações de coloração amarelo-alaranjada na face superior da folha chamadas de uredínios. As condições que favorecem a doença são temperaturas na faixa dos 20°C e mais de 6hs de molhamento foliar e sua disseminação se dá através de plantas voluntárias (REIS; CASA, 2016).

Por ser um produto de fácil acesso aos produtores, além de ter seu preparo, armazenamento e modo de usar simplificado, a própolis favorece a realização de produções de base ecológica, possibilitando a produção, de forma eficiente, de culturas como o trigo, que demandam aplicações constantes de pesticidas para o controle de patógenos.

Com isso, esse trabalho teve por objetivo avaliar o potencial do extrato etanólico de própolis no controle destas quatro doenças fúngicas, citadas anteriormente, que afetam a cultura do trigo e ocasionam perdas significativas na produtividade da cultura, além de verificar o efeito do extrato na indução de enzimas relacionadas a defesa vegetal em plantas de trigo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação na Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, *campus* Laranjeiras do Sul – PR.

A obtenção da própolis foi a partir de apiários da região de Laranjeiras do Sul-PR. Foi utilizada a própolis marrom produzida por abelhas *Apis mellifera*. Para obtenção do extrato, primeiramente foi realizada a retirada de impurezas, e em seguida adicionado álcool etílico P.A. 70%, sendo a proporção de própolis e álcool de 16:84% (peso/volume), respectivamente (PEREIRA et al., 2008). Após a mistura dos componentes, o extrato foi mantido em repouso por 15 dias, sendo a seguir filtrado em papel quantitativo. Esse foi considerado o extrato etanólico a 100%. A partir desse extrato foram preparadas as concentrações de 0, 0,1, 0,5, 1 e 2% que foram utilizadas nos bioensaios, utilizando água destilada nas diluições.

Para brusone, giberela e helmintosporiose, os patógenos foram obtidos através de plantas de trigo com sintomas das respectivas doenças, isolados em meio de cultura ágar-água a 2% em placas de Petri e posteriormente cultivadas em meio BDA (batata-dextrose-água) e incubadas a 25°C em escuro.

A atividade antifúngica do extrato sobre os patógenos *Pyricularia grisea*, *Fusarium graminearum* e *Bipolaris sorokiniana* foi avaliada por meio do crescimento micelial das colônias, onde o extrato etanólico de própolis foi incorporado aos meios de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar), após estes serem autoclavados, e vertidos em placas de Petri, já homogeneizados. Após o preparo do meio de cultura, foi realizada a transferência de um disco de micélio de 7 mm de diâmetro, obtido a partir de colônias com 14 dias para a parte central da placa. As placas foram incubadas a 25°C em escuro. As medições foram feitas através da aferição do diâmetro médio das colônias a cada três dias, até que as maiores colônias atinssem cerca de $\frac{3}{4}$ da placa. Com os dados obtidos foi calculada a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM), através da formula $AACCM = \Sigma [((y1 + y2)/2)*(t2-t1)]$, onde $y1$ e $y2$ são duas avaliações consecutivas realizadas nos tempos $t1$ e $t2$, respectivamente. Ao final do experimento foi preparada uma suspensão de esporos de cada colônia, para quantificar a produção de esporos. Para tanto foram adicionados 10 mL de água destilada na placa de Petri contendo os isolados fúngicos, seguido de raspagem da colônia com auxílio de alça de Drygalski.

O material foi filtrado em gaze e a concentração de esporos na suspensão obtida foi determinada com auxílio de câmara de Neubauer.

Para *Puccinia triticina*, agente causal da ferrugem da folha do trigo, foram preparados testes de germinação de esporos e medição do tamanho dos tubos germinativos, por se tratar de um patógeno biotrófico sem crescimento em meio de cultura. Primeiramente, foi feito o preparo da suspensão de esporos através da raspagem de folhas com sinais da doença, com auxílio de um pincel para a remoção dos uredósporos, transferindo para um béquer com 10 ml de água destilada. Com a suspensão obtida, foi ajustada a concentração de uredósporos em câmara de Neubauer, para 1×10^4 esporos/mL. Para implantação do experimento, foram preparadas lâminas de microscopia cobertas com meio ágar-água 2%. Sobre cada lâmina foi adicionado 30 µL de suspensão de esporos e 30 µL do respectivo tratamento. Em seguida, foi feita a incubação em placas de Petri de plástico, depositadas sobre papel de germinação umedecido, tampadas e mantidas a 25°C, no escuro. Para a avaliação da porcentagem de germinação, foi realizada a paralização da germinação após 6 horas de incubação, com 10 µL de azul algodão de lactofenol, seguido de observações em microscópio, sendo feito a contagem de 100 esporos para a determinação da porcentagem (%) de esporos germinados. Foram considerados como esporos germinados aqueles com tubo germinativo maiores que o menor diâmetro do esporo. Para a avaliação do tamanho dos tubos germinativos, foram medidos 10 esporos com régua microscópica, em aumento de 100x.

Para avaliação de enzimas relacionadas a defesa vegetal, foi implantado experimento em casa de vegetação. Para tanto, sementes da cultivar de trigo cv. CD 104 foram semeadas em vasos contendo mistura de solo e composto orgânico na proporção de 3:1 v/v respectivamente. Os tratamentos foram aplicados através de pulverização até ponto de escorrimento, aos 30 dias após a semeadura. Para realização das análises bioquímicas, as amostras de tecido foliar de aproximadamente 0,5 g, foram coletadas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas após a aplicação dos tratamentos. As amostras foram imediatamente armazenadas separadamente em temperatura de -20°C. Para quantificação da atividade enzimática, as amostras foram homogeneizadas em 3 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) contendo 1% (p/p) de PVP (polivinil-pirrolidona), em almofariz de porcelana. O homogeneizado foi centrifugado a 14.500 g durante 20 min a 4°C. O sobrenadante obtido, considerado como extrato enzimático, foi utilizado para a determinação da atividade enzimática. Todo material empregado ficou mantido congelado a -20°C até a realização das análises, ficando refrigerados durante todo o

processo. Foram determinadas a atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas. A atividade das polifenoloxidasas foi determinada conforme a metodologia proposta por Duangmal e Apenten (1999). Para tanto, o substrato para enzima foi composto por catecol, na concentração de 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). A reação foi conduzida misturando-se 1000 µL do substrato e 20 µL do extrato enzimático seguida de leituras em espectrofotômetro, a 420 nm. As leituras foram realizadas de forma direta por um período de 1 min. Os resultados foram expressos em absorbância min⁻¹ mg de proteína⁻¹. A atividade de peroxidases foi determinada pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol (LUSSO; PASCHOLATTI, 1999), a 470 nm, sendo a mistura constituída de 0,2 ml de extrato proteico e 2,8 ml do substrato para enzima (306 µL de peróxido de hidrogênio P.A., 12,5 ml de guaiacol a 2% e 87,5 ml de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0), conduzida a 30°C por 1 min. Para polifenoloxidase mediu-se a oxidação do catecol em quinona por 1 minuto a 420 nm (DUANGMAL; APENTEN, 1999).

Os dados foram submetidos a análise de variância e análise de regressão, com auxílio do programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ATIVIDADE DIRETA SOBRE FITOPATÓGENOS

O extrato etanólico de própolis promoveu a inibição significativa no crescimento micelial do fungo *Pyricularia grisea* (Figura 1), *Fusarium graminearum* (Figura 2) e *Bipolaris sorokiniana* (Figura 3). A equação linear foi significativa e a que mais se ajustou aos dados para ambos os fitopatógenos sendo, para *Pyricularia grisea* ($y = -0,5281x + 3,1277$), para *Fusarium graminearum* ($y = -0,5191x + 3,1986$) e para *Bipolaris sorokiniana* ($y = 4,9042 - 0,6447x$), indicando que houve aumento na atividade com o aumento na concentração do extrato em todos os casos. O tratamento com extrato etanólico de própolis a 2% apresentou redução de 35,77% no crescimento micelial do fungo *P. grisea*, quando comparado ao tratamento a 0%. Para o fungo *F. graminearum* os resultados seguiram a mesma tendência, com redução de 34,06% no crescimento micelial na concentração de 2,0%, em relação ao tratamento a 0,0%, assim como para *B. sorokiniana*, onde a concentração a 2% apresentou redução de 26,3% no crescimento micelial do fungo, quando comparado ao tratamento a 0%.

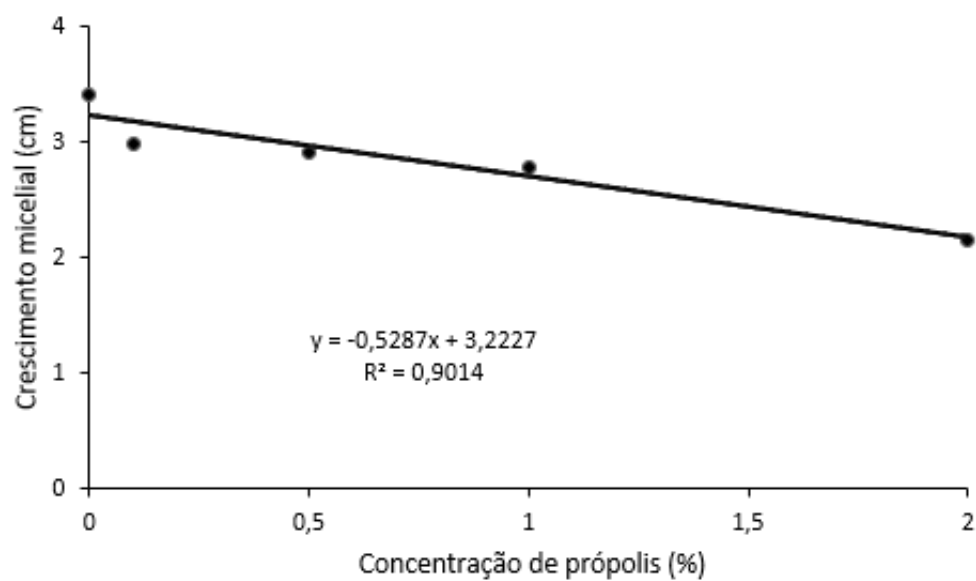


Figura 1 - Crescimento micelial de *Pyricularia grisea* em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis após nove dias de incubação.

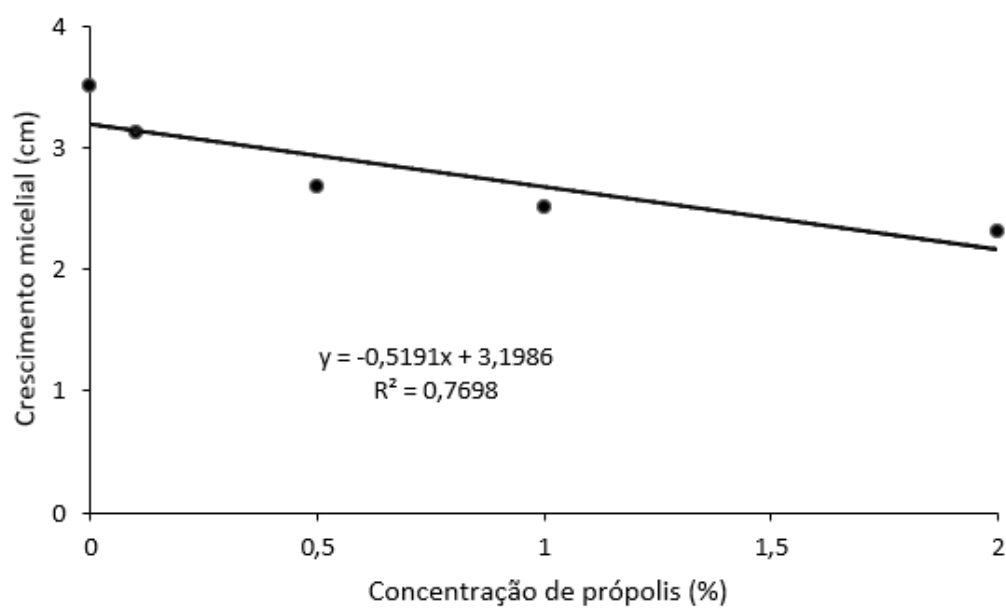


Figura 2 - Crescimento micelial de *Fusarium graminearum* em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis após nove dias de incubação.

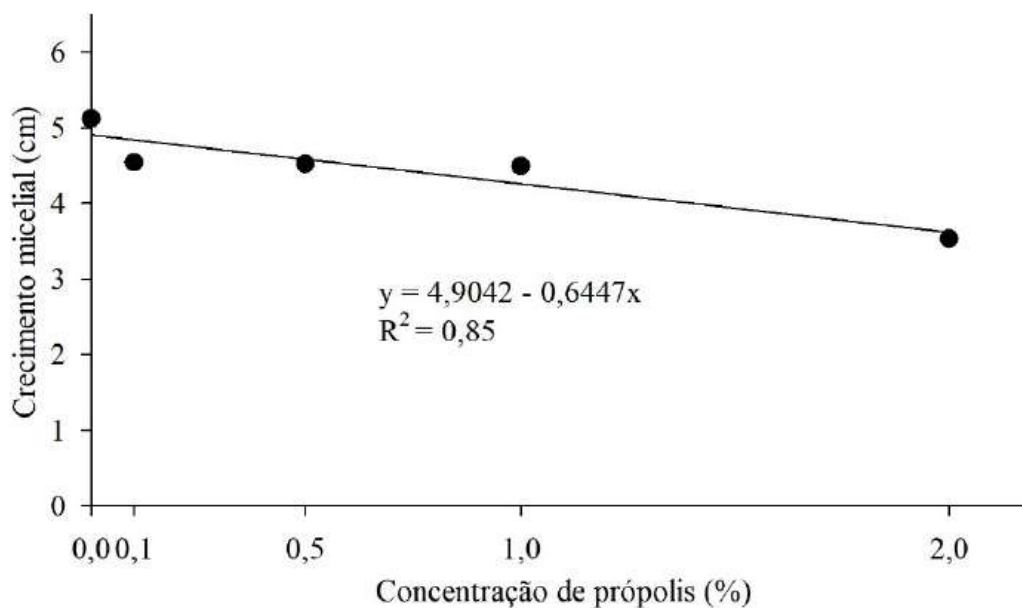


Figura 3 - Crescimento micelial de *Bipolaris sorokiniana* em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis após nove dias de incubação.

Para a AACCM (Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial), os resultados obtidos foram semelhantes, apresentando inibição no crescimento das colônias tanto para *Pyricularia grisea* (Figura 4), quanto para *Fusarium graminearum* (Figura 5) e *Bipolaris sorokiniana* (Figura 6), conforme o aumento da concentração do extrato. A AACCM é um valor adimensional que considera a integral das diferentes avaliações durante o desenvolvimento do patógeno. Para o fungo *P. grisea*, o tratamento com extrato etanólico de própolis a 2% apresentou redução de 33,06% no valor de AACCM, em comparação ao tratamento com 0% do extrato. Já para o fungo *F. graminearum*, a redução foi de 40,32%, quando comparados os mesmos tratamentos e para *B. sorokiniana*, a redução foi de 27,5%, comparado ao tratamento de concentração 0%.

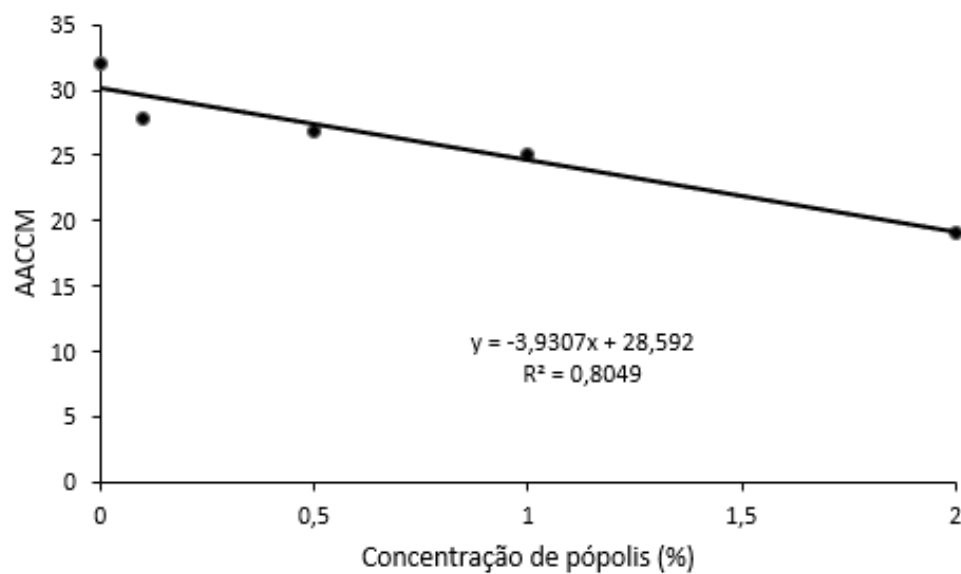


Figura 4 - Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) de *Pyricularia grisea* em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis

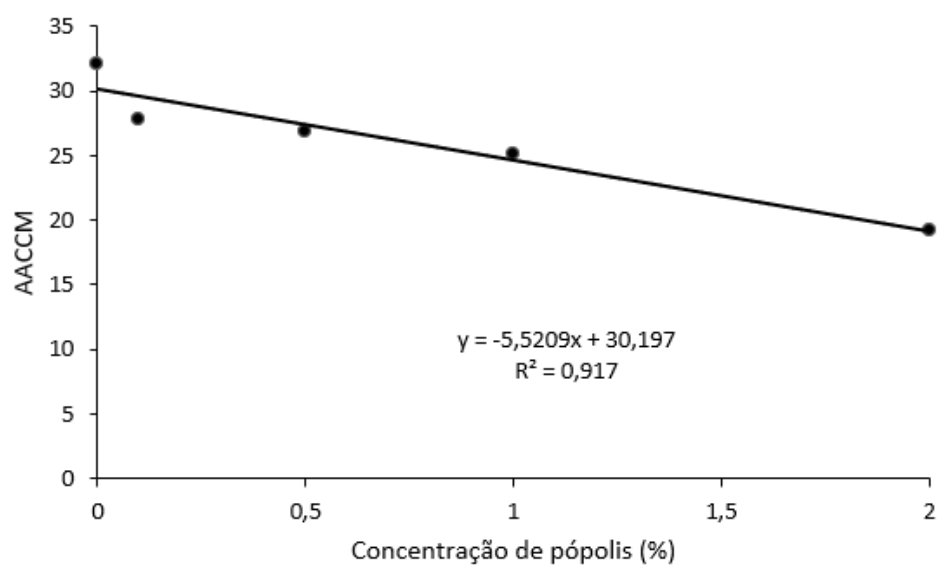


Figura 5 - Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) de *Fusarium graminearum* em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis

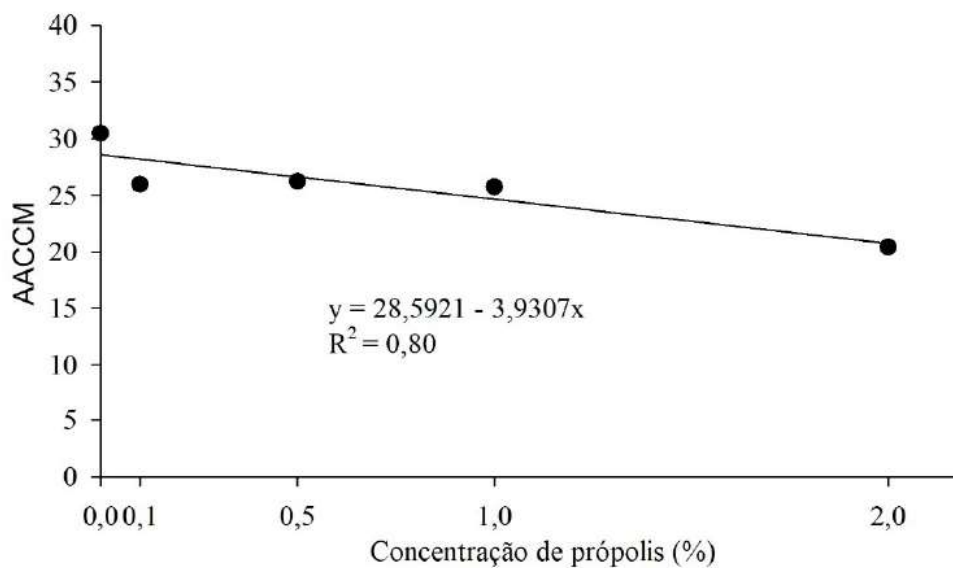


Figura 6 - Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) de *Bipolaris sorokiniana* em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis.

As colônias dos fungos *P. grisea*, *F. graminearum* e *B. sorokiniana* não apresentaram produção de esporos nas condições do experimento, independentemente da presença ou não do extrato etanólico de própolis.

Diversos estudos da própolis demonstraram efeito sobre bactérias como *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Escherichia coli*, entre outras, que podem ocasionar danos à saúde humana (VARGAS et al., 2004). No entanto, alguns estudos mais recentes têm demonstrado efeito sobre alguns patógenos de plantas como *Colletotrichum* spp., causador da antracnose, na cultura do abacateiro (DA SILVA et al., 2019), *Penicillium* sp., fungo que provoca deterioração em sementes armazenadas, afetando sua qualidade fisiológica (SOUZA et al., 2017).

O extrato etanólico de própolis apresentou inibição na germinação de esporos da ferrugem da folha do trigo (Figura 7). Inibição significativa já observada a partir da concentração de 0,1%, tendendo a estabilizar em maiores concentrações. Na concentração de 0,1%, a redução foi de 39,65% e a 2% do extrato, a redução foi de 80,36% em relação ao tratamento sem o extrato.

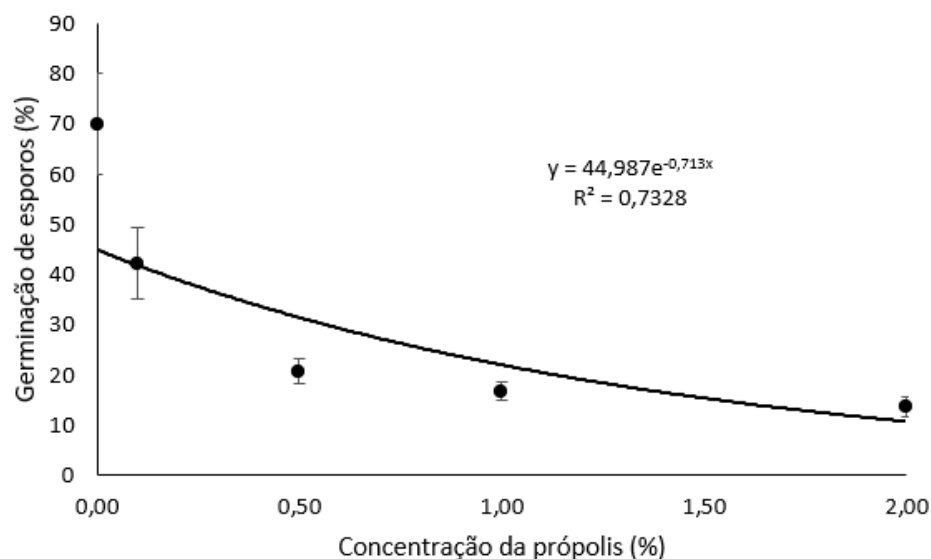


Figura 7 - Germinação de esporos de *Puccinia triticina* após 6 horas de incubação, em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis.

O extrato também apresentou resultados significativos na redução dos tamanhos dos tubos germinativos do agente causal da ferrugem da folha do trigo (Figura 8), com inibição já ocorrendo a partir da concentração a 0,1%. Comparando com a testemunha, os tamanhos dos tubos germinativos reduziram 84,92% com a concentração a 0,1% do extrato. Já no tratamento a 2,0%, a redução foi de 73,75%, quando comparado a testemunha a 0,0%.

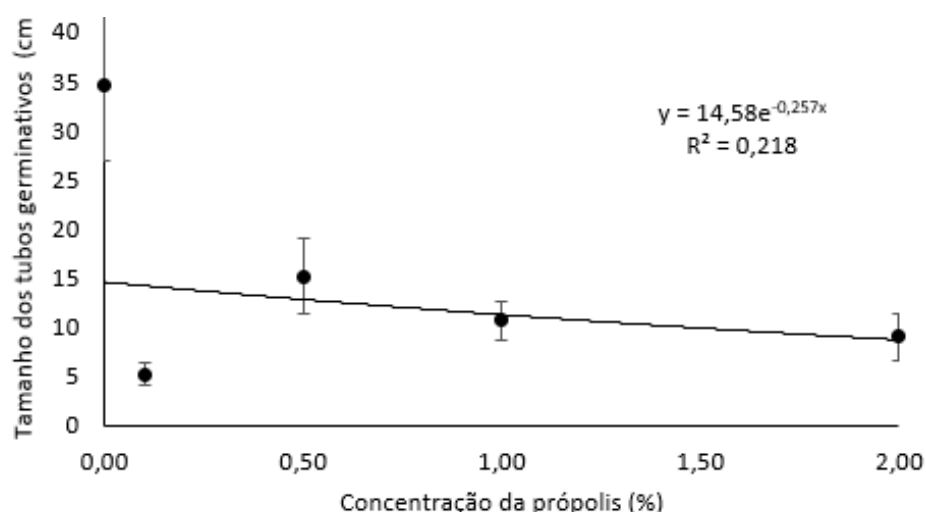


Figura 8 - Tamanho dos tubos germinativos de esporos de *Puccinia triticina* após 6 horas de incubação, em diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis.

Os princípios ativos presentes na própolis demonstraram a capacidade de inibição sobre os uredósporos da ferrugem, afetando sua germinação e o tamanho do tubo germinativo. Tal resultado é importante, pois a ferrugem pertence ao grupo de fungos dos basidiomicetos, comprovando que a própolis apresenta efeitos inibitórios significativos sobre diferentes grupos fúngicos, como ocorre com *P. grisea*, *F. graminearum* e *B. sorokiniana*, que pertencem ao grupo dos ascomicetos. Como não houve inibição total da germinação e desenvolvimento dos tubos, o efeito do extrato etanólico de própolis nas concentrações testadas mostrou-se fungistático e não fungicida. Embora não tenha sido observada inibição total do desenvolvimento dos tubos germinativos, possivelmente o efeito observado pode ser determinante para afetar a infecção em plantas. De acordo com estudos, a própolis conta com mais de 300 substâncias já identificadas, onde se destacam os flavonoides, ácidos fenólicos, terpenóides, vitaminas, entre outros (CARVALHO; SODRÉ, 2021).

Estudos indicam que a própolis apresentou resultados significativos na redução do tamanho dos tubos germinativos de *Phakopsora euvitis*, ferrugem que atinge a videira (MARINI et al., 2012), além de resultados promissores observados no controle de onicomiose, infecção fúngica que afeta as unhas, de oneroso controle (LONGHINI et al., 2007).

3.2 ATIVIDADE DE ENZIMAS RELACIONADAS A DEFESA

Na atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas não foram observadas diferenças significativas entre as diferentes concentrações de própolis, nem entre os diferentes tempos após os tratamentos (Figura 9). Também não foi observada interação significativa entre esses fatores.

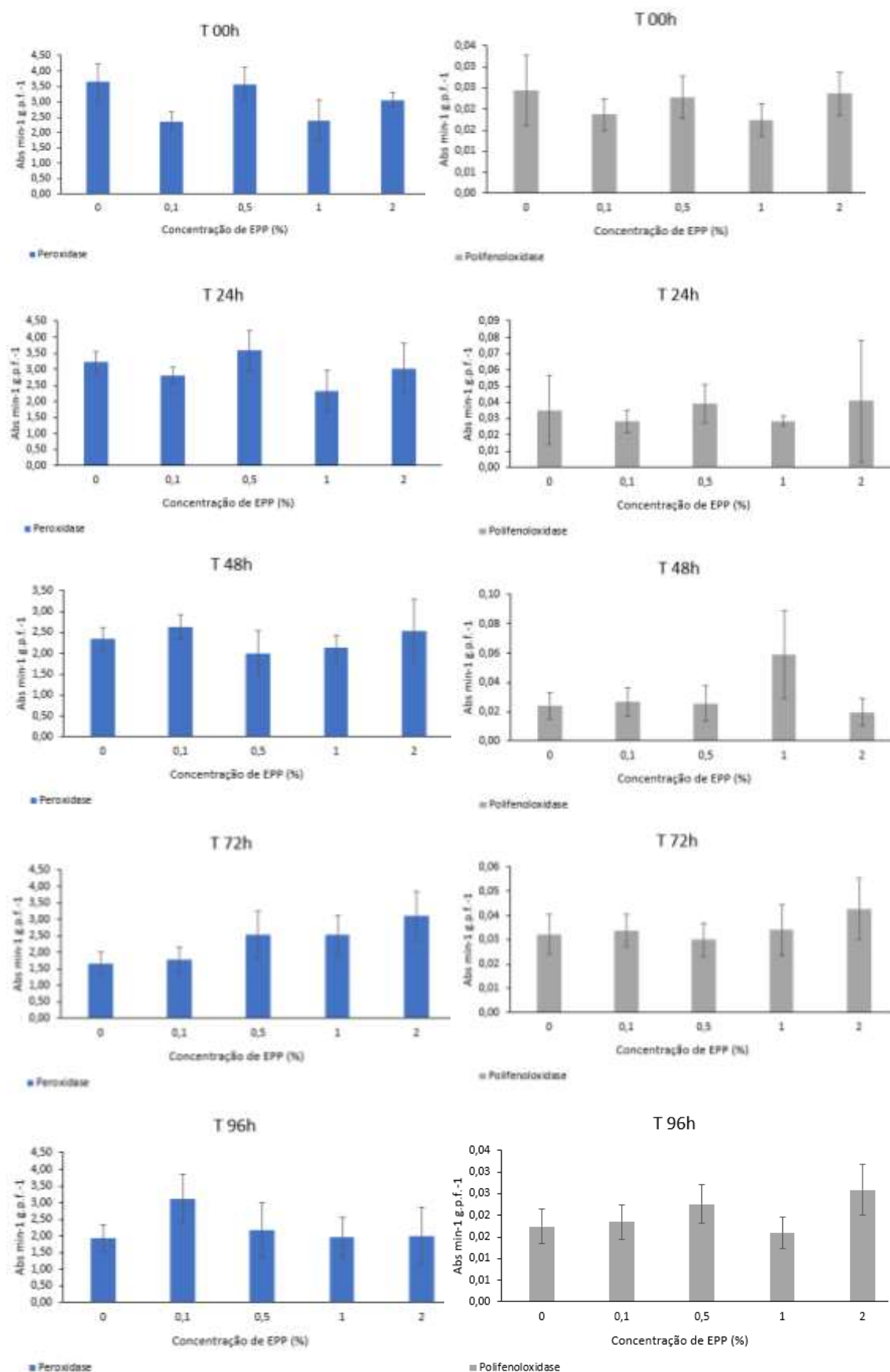


Figura 9 - Atividade de peroxidases e polifenoloxidasas em folhas de trigo tratadas com diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis.

A peroxidase (POD) é uma enzima relacionada a diversos processos na planta, atuando na lignificação, oxidação de fenóis, cicatrização de ferimentos, defesa contra patógenos, entre outras reações (CAMPOS et al., 2004). A polifenoloxidase (PFO) é uma enzima de grande importância para as plantas, visto que a mesma atua na formação de quinonas, por meio da oxidação de compostos fenólicos, que apresentam ação antimicrobiana além de permitir que derivados produzidos sejam mais tóxicos que o fenol original, proporcionando resistência ao ataque de patógenos (ALVARENGA et al., 2011). Jaski et al. (2019) observaram indução de polifenoloxidases em plantas de feijoeiro pelo uso de extrato etanólico de própolis verde.

Conforme GIEBEL (1982), as enzimas POD e PFO, quando presentes na cultura do cafeeiro, promovem o aumento no teor de fenóis livres, que afetam o sistema peroxidástico, responsável pela destruição do hormônio vegetal ácido indolacético (AIA) e, com isso, impedem a formação das células de galha de *Meloidogyne incógnita*. Em plantas que apresentam características de resistência, esse sistema é favorecido e o contrário ocorre em plantas suscetíveis.

Embora não foram obtidas diferenças significativas nessas enzimas é importante aprofundar estudos para compreender se a própolis pode induzir outros mecanismos em trigo.

4 CONCLUSÃO

O extrato etanólico de própolis apresentou efeito inibitório significativo sobre os fungos *Pyricularia grisea*, *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* e *Puccinia triticina*, agentes causais do brusone, giberela, helmintosporiose e ferrugem no trigo, respectivamente.

A aplicação do extrato etanólico de própolis não promoveu alteração na atividade de peroxidases e polifenoloxidases.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, T.C. et al. Polifenoloxidase: uma enzima intrigante. **Ciência & Tecnologia**, v. 3, n. 1, 2011.
- CAMPOS, Â.D. et al. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 637-643, 2004.
- CARVALHO, G.J.L.; SODRÉ, G.S. Application of propolis in agriculture. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 88, 2021.
- DA SILVA, T. K. et al. Atividade antifúngica in vitro de própolis sobre *Colletotrichum* spp. DO ABACATE. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 16, n. 3, 2019.
- DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) e potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v.64, p. 351-359, 1999.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR: Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.0**. Lavras: DEX/UFLA, 2007. CD-ROM. Software.
- GIEBEL, J. Mecanismo de resistência a fitonematóides. **Revisão Anual de Fitopatologia**, v. 20, n. 1, pág. 257-279, 1982.
- JASKI, J. M. et al. Green propolis ethanolic extract in bean plant protection against bacterial diseases. **Ciência Rural**, v. 49, 2019.
- LONGHINI, R. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 388-395, 2007.
- LUSSO, M.F.G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v.25, p.244-249, 1999.
- MARINI, D. et al. Efeito antifúngico de extratos alcoólicos de própolis sobre patógenos da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 305-308, 2012.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, C.S. et al. Extrato etanólico de própolis (EEP) no controle de cercóspora e ferrugem do cafeeiro. **Revista Ceres**, v.55, p.369-376, 2008.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Doenças do trigo. In. AMORIM, L. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças plantas cultivadas**. Ouro Fino: Agronômica Ceres, v.2, p.737-744. 2016.

SOUZA, E.P. et al. Extrato de própolis no controle do *Penicillium* sp. e na qualidade de sementes de couve-flor. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 11, n. 2, pág. 135-141, 2017.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. et al. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 129-137, 2000.

VARGAS, A.C. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, p. 159-163, 2004.

YANG, S. Z.; PENG, L. T.; SU, X. J. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal components from propolis against *Penicillium italicum*. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 210- 215, 2011.

ANEXO

1. Revista de Ciências Agroveterinárias publica **Artigo de Pesquisa** (artigo completo), **Nota de Pesquisa** (nota científica) e **Artigo de Revisão** (revisão de literatura), incluídos em quatro grandes seções: Ciência de Plantas e Produtos Derivados, Ciência de Animais e Produtos Derivados, Ciência do Solo e do Ambiente e Multiseções e Áreas Correlatas.

2. Para artigos em português, há exigência da versão em inglês do título, do resumo, das palavras-chave e do título de figuras e tabelas. Deve ser redigido no editor de texto **MS-Word** (.doc, preferencialmente), folha em formato **A4** (21,0 x 29,5 cm), margens de **2,5 cm**, em **espaçamento 1,5**, fonte **Times New Roman**, tamanho **12**, com parágrafo automático e justificado. As páginas devem ser numeradas de forma progressiva no canto superior direito.

3. Artigos de Pesquisa e Artigos de Revisão não têm limite de páginas (recomenda-se até **25 páginas**). **Notas de Pesquisa** devem conter no máximo **10 páginas**. Tabelas e figuras são contabilizadas no limite de páginas.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS

4. Artigos de Pesquisa devem conter os seguintes tópicos: Título, conciso e objetivo (em dois idiomas, conforme item 2); Resumo, com no máximo 300 palavras (em dois idiomas, conforme item 2); Palavras-chave, no máximo 6 (em dois idiomas, conforme item 2); Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão (pode ser incluída em uma única seção Resultados e Discussão); Conclusão; Agradecimentos (elemento opcional); e Referências (conforme item 16). O título dos tópicos do artigo deve ser escrito em letras maiúsculas e em negrito.

4.1. Para textos em inglês, usar os seguintes títulos de tópico: Title, Abstract, Keywords, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements e References.

ELEMENTOS GRÁFICOS

5. Elementos gráficos (gráficos, fotografias e desenhos são designados como Figuras, e Tabelas) devem ser incluídos imediatamente após serem citados no texto e numerados

sequencialmente (por. ex. Figura 1. Título...; ou Tabela 1. Título...). Figuras devem ser inseridas no corpo do texto a partir de arquivos JPG (300 dpi ou mais).

6. Figuras coloridas são aceitas.

7. Tabelas e figuras devem estar em orientação de retrato, não excedendo os limites da página.

8. Título de tabelas e figuras de manuscritos em português deve também ser fornecido em inglês. Manuscritos em inglês não necessitam da versão em português do título das tabelas e figuras.

RECOMENDAÇÕES GERAIS

9. Citações no Texto:

a) (MOULTON 1978), (DUBEY & PORTERFIELD 1990) ou (MARSH et al. 1998) para três ou mais autores. Esta forma é preferida pela revista.

b) De acordo com TENDER (2000), SANTOS & BARROS (1999) ou MARSH et al. (1998) para três ou mais autores. Esta forma deve ser usada apenas em situações específicas, optando geralmente pela forma acima.

10. Referências:

a) CARVALHO LB, CARVALHO LB & BIANCO MS ou CARVALHO LB et al. para três ou mais autores.

b) O título dos periódicos deve ser completo (não abreviar). A cidade de publicação do periódico e o número da edição não devem ser citados (veja abaixo).

c) Modelos de referências:

Artigos Completos

CARMO M et al. 2017. Portuguese cropland in the 1950s: The transition from organic to chemical fertilization. Scientific Reports 7: 8111.

11. Unidades de medida devem ser descritas de acordo com o Sistema Internacional [porcentagem deve vir junto ao número (10%), enquanto as demais unidades devem vir separadas (10 cm, 30 °C, 2 m s⁻¹ etc.)].