

EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS (EEP) NO CONTROLE DA CERCOSPORIOSE (*Cercospora coffeicola* Berk. & Cooke) E NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE CAFEIEIRO.

Cassiano S. PEREIRA¹, E-mail: caspoziani@yahoo.com.br; Adriano A. SILVA²; Rubens J. GUIMARÃES²; Edson A. POZZA²

¹Mestre Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, ²Graduando Universidade Federal de Lavras ³Prof adjunto Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Resumo:

Neste trabalho foi verificado o efeito do Extrato etanólico de própolis (EEP) sobre a intensidade da cercosporiose e o desenvolvimento de mudas, de cafeeiro. O experimento foi instalado em casa-de-vegetação, em mudas da cultivar Catuaí vermelho IAC-99, submetidas às doses do contraste 0 % (testemunha) e 10 doses (0,05; 0,1; 0,2; 0,6; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 e 5,0 %) de EEP confeccionado com 16 % de Própolis bruta e 84 % de álcool, diluídas em água, aplicadas a cada quinze dias, a partir do dia 01 de junho até o dia 05 de setembro de 2002. Conclui-se que: O EEP aplicado via foliar, em mudas de cafeeiro, diminui a incidência e a severidade da cercosporiose, de forma mais eficiente na concentração de 1,79, e o EEP não prejudica o desenvolvimento das plantas.

Palavras-chave: Cercosporiose, própolis, Doenças, controle.

PROPOLIS ETHANOLIC EXTRACT CONTROLLING 'BROWN EYE SPOT' (*CERCOSPORA COFFEICOLA* BERK AND COOKE) AND IN THE DEVELOPMENT OF PLANT OF COFFEE.

Abstract:

The objectives of this research were to evaluate the effect of propolis ethanolic extract in 'brown eye spot'. The experiment was installed in greenhouse, the 'brown eye spot' intensity in seedlings submitted to control (0%) and 10 dosages (0,05; 0,1; 0,2; 0,6; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 5,0 %) of propolis ethanolic extract diluted in water was observed, applied every fifteen days, from June 1 through September 5, 2002, and conducted in the Phytopatology Department of Federal University of Lavras, and the following conclusions were taken: the propolis ethanolic extract, prepared from raw propolis 16%, diluted in water 1,79% and applied to leaves, decreased the incidence and severity of 'brown eye spot' in coffee seedlings.

Key words: Brown eye spot, propolis, disease, control.

Introdução

As pesquisas sobre as propriedades farmacológicas e nutricionais da própolis, geléia real, pólen e cera, estão levando os apicultores a buscar um aumento de produção e aproveitamento desses produtos, entre eles, a própolis vem se destacando por suas propriedades terapêuticas, antimicrobianas, antiinflamatórias, cicatrizantes e anestésicas (Ghisalberti et al., 1977). As propriedades da própolis são muito estudadas pela ciência, e atribuídas principalmente aos compostos fenólicos conhecidos como flavonóides, extraídos pelas abelhas das plantas que forrageiam.

Abelhas *Apis mellifera* coletam exsudados nas plantas de partes como brotos, cascas, modificando este material nas colméias, pela adição de secreções salivares e cera, transformando-o em uma substância de coloração marrom e de odor balsâmico, a própolis (Marcucci, 1996). As abelhas utilizam a própolis para vedar frestas e rachaduras, que ocorrem nas colméias ou caixas, reforçando as finas paredes dos favos. Além desse uso reparador do ambiente, as abelhas a utilizam para embalsamar invasores, como formigas, e outros insetos (Ghisalberti, 1979). A composição da própolis é complexa. Para estudar sua composição e os seus constituintes, o método utilizado é a extração da fração solúvel em álcool, contendo cera, (Ghisalberti, 1979). Além de complexa, a própolis varia de região para região, devido à sua origem botânica.

Em termos de nutrientes presentes na própolis, a mais de 50 anos é conhecida a presença de quantidades de vitaminas, tais como B₁, B₂, B₆, E, ácido ascórbico, ácido pantotênico e dos minerais Fe, Ca, Al, Va, Sr, Mn, e Si. Além destes minerais, destaca-se a presença de elementos como Na, K, Mg, Ba, Zn, Cd, Ni, Ag, Cu, Co, e Mo (Mazzuco, 1994). As pesquisas com própolis, nas mais diversas áreas do conhecimento, e posterior aumento de opções de uso, geraram uma demanda crescente por este produto, tanto no mercado externo quanto no interno, motivando os apicultores a diversificarem suas atividades. No passado, os apicultores descartavam a própolis, atualmente esta é utilizada em grande escala comercial, com objetivos terapêuticos em humanos e animais. (Breyer, 1996). Além dos muitos usos já conhecidos, neste trabalho propõem-se o aproveitamento da própolis de abelha para aplicação em plantas de uso agrícola. Acredita-se que a aplicação do Extrato etanólico de própolis (EEP), para controle de doenças de plantas cultivadas e como elemento de desenvolvimento das plantas, poderá se tornar uma realidade nos próximos anos. A atual tendência de uso de produtos naturais em plantas cultivadas, assim como a própolis, apresenta as seguintes vantagens: fácil obtenção, por qualquer produtor, seja ele familiar ou empresário agrícola, facilidade de manuseio, uma vez que cuidados especiais não são

necessários, riscos quase nulos à saúde dos trabalhadores rurais e dos consumidores destes alimentos, e o baixo impacto ambiental.

A cercosporiose do cafeeiro, nas folhas, inicia com pequenas manchas foliares de cor marrom escura, que crescem rapidamente, ficando o centro das lesões cinza-claro, com um anel arroxeado ou amarelado em volta da lesão, o que lhe confere a aparência de um olho. A desfolha é causada pela grande produção de etileno no processo de necrose, bastando uma lesão por folha para causar sua queda (Matiello et al., 2002). Vários fatores favorecem o progresso da doença, entre eles, a umidade relativa alta, a temperatura baixa e a insolação (Almeida, 1986). Nos viveiros os substratos pobres em matéria orgânica, ou sem as devidas correções químicas, com relações desequilibradas dos nutrientes e solos com textura inadequada (muito argilosos ou muito arenosos) são fatores que podem predispor as mudas a uma maior incidência da cercosporiose. Além desses fatores, o déficit hídrico, os ventos frios, ou quaisquer condições adversas após o plantio também podem auxiliar na infecção (Almeida, 1986). Apesar de vários produtos serem indicados para controle da cercosporiose, os seus efeitos no meio ambiente e as contaminações geradas pelo uso dos mesmos, cada vez mais incentivam a pesquisa de compostos e substâncias naturais, menos agressivas, e de classes toxicológicas mais baixas.

Diante do exposto anteriormente os objetivos deste trabalho foram: a) verificar o efeito e a melhor concentração de EEP para aplicação via foliar no controle da Cercosporiose, em mudas de cafeeiro; b) verificar o efeito do EEP no desenvolvimento de mudas de cafeeiro.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no período de 1º de julho a 5 de setembro de 2002 em casa-de-vegetação climatizada, no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA, localizada na cidade de Lavras, situada na região sul do estado de Minas Gerais. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco repetições, sendo a unidade experimental composta por quatro vasos. O delineamento estatístico foi em fatorial, de acordo com o seguinte esquema, $(10+1)*5$, com cinco repetições, sendo avaliadas dez doses de EEP (0,05; 0,1; 0,2; 0,6; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; e 5,0 % de EEP em água), mais um tratamento adicional sem EEP (testemunha), em cinco épocas de avaliação, formando assim um contraste não ortogonal entre a testemunha, sem aplicação de própolis, vs. tratamentos com as dosagens de própolis. Para realização do experimento, foram utilizadas mudas com três pares de folhas da cultivar catuaí vermelho IAC-99, adquiridas junto a um produtor da região de Lavras-MG. Após a aquisição das mudas, estas foram imediatamente transplantadas para vasos de plástico com capacidade volumétrica de 3 litros. O volume restante dos vasos foi preenchido com substrato “padrão”, constituído por 700 litros de terra, 300 litros de esterco de curral curtido e peneirado, 5 kg de superfosfato simples e 0,5 kg de cloreto de potássio, e as adubações seguiram as recomendações da CFSEMG (1999).

A própolis utilizada foi adquirida junto a um produtor da região de Lavras-MG. A coloração da mesma era marrom escura e estava em estado moldável, ou seja, considerada fresca. Para evitar a perda das propriedades medicinais, a própolis foi armazenada em congelador até a confecção do extrato para o experimento, tendo sofrido anteriormente uma limpeza para retirada de abelhas mortas, galhos ou outras impurezas. Na produção do extrato foi utilizado álcool de cereais 90 %, sendo a proporção com base em peso/peso de própolis bruta e álcool de 16 % e 84 % respectivamente. Os componentes depois de misturados ficaram em “descanso” por um mês, para diluição da própolis. Somente após esse período, as doses do extrato foram mensuradas e, em seguida, coadas em papel de filtro separadamente. A partir das doses prontas, preparou-se em laboratório as soluções finais, ou caldas para pulverização. Estas foram diluídas em água, na proporção em (v/v), tendo sido adicionado também espalhante adesivo (1mL/L). Foram realizadas cinco pulverizações de EEP, espaçadas a cada quinze dias, com pulverizador manual, gastando-se 1 litro de calda por tratamento.

Para aumentar a infecção nas plantas, no início do experimento, foi realizada a inoculação das mudas de cafeeiro, com suspensão de conídios de *Cercospora coffeicola*, na concentração de $2,5 \times 10^4$ conídios/ mL, para aumentar a severidade e a incidência da doença em todo o experimento. Os conídios foram obtidos pela coleta de folhas infectadas, em cafezais próximos à Universidade Federal de Lavras que não haviam sofrido anteriormente nenhum tipo de pulverização de produtos fitossanitários. Após a coleta, seguindo a metodologia proposta por Pozza (1999), as folhas foram lavadas e submetidas à câmara úmida durante 48 horas, para esporulação do patógeno. Com auxílio de pincel, os conídios foram retirados e colocados em água desmineralizada, formando assim uma suspensão, quantificada em câmara de “Neubauer”. A suspensão de conídios foi pulverizada sobre as mudas com pulverizador manual, e, em seguida, as mudas foram submetidas a um processo de câmaras úmidas, obtidas pela cobertura das mudas com sacos plásticos, mantendo assim um ambiente ideal para o desenvolvimento dos conídios.

Avaliou-se quinzenalmente a intensidade e a severidade da cercosporiose e os efeitos do EEP sobre o desenvolvimento das mudas de cafeeiro. A incidência foi avaliada pelo número de folhas lesionadas por planta e porcentagem de folhas lesionadas por planta. A severidade foi avaliada pelo número de lesões por planta, e também pela porcentagem de área foliar lesionada, medida ao final do experimento. Para verificar o desenvolvimento das mudas foi avaliada a desfolha, a área foliar (cm^2), o número de folhas por planta, e a massa seca da parte aérea ao final do experimento.

Resultados e Discussão

Avaliação da Incidência da cercosporiose

As folhas lesionadas/ planta foram reduzidas entre a média dos tratamentos com aplicação de EEP e a testemunha em 44,5 %, sendo os valores destas de 2 e 1,11 folhas lesionadas/ planta respectivamente (Figura 1a). Essa comparação foi possível por não ter havido diferença entre as concentrações de EEP, possivelmente devido à pequena porcentagem de infecção no experimento, apesar da inoculação realizada, ou ao fato da alta sensibilidade da cercosporiose ao EEP, que mesmo em baixas doses apresentou alta eficiência. Para a variável porcentagem de folhas lesionadas/ planta, a porcentagem de eficiência média das doses do EEP, em relação à testemunha durante todo o experimento, foi de 44,78%, sendo a incidência média na testemunha de 18,11 % de folhas infectadas e para a média dos tratamentos com aplicação de extrato etanólico de própolis de 10 %, mostrando que o EEP reduziu a incidência da doença em qualquer das concentrações utilizadas (Figura 1b). A própolis atuou, impedindo a infecção das folhas pelos conídios como um fungicida protetor, devido à sua constituição química com a presença de compostos fenólicos (flavonóides), atuando principalmente como um indutor de resistência. Cavalcanti (2000) estudando a indução de resistência em plântulas de cacau, utilizando o BTH, composto que atua como elicitador de resistência, junto às enzimas peroxidases e polifenoloxidasas, obteve resposta diferencial em relação ao fungo *Verticillium dahliae*. O referido autor concluiu ser esta resistência devida ao acúmulo de lignina e outros compostos fenólicos, fato que reforça os resultados obtidos no presente estudo, principalmente em relação aos compostos fenólicos.

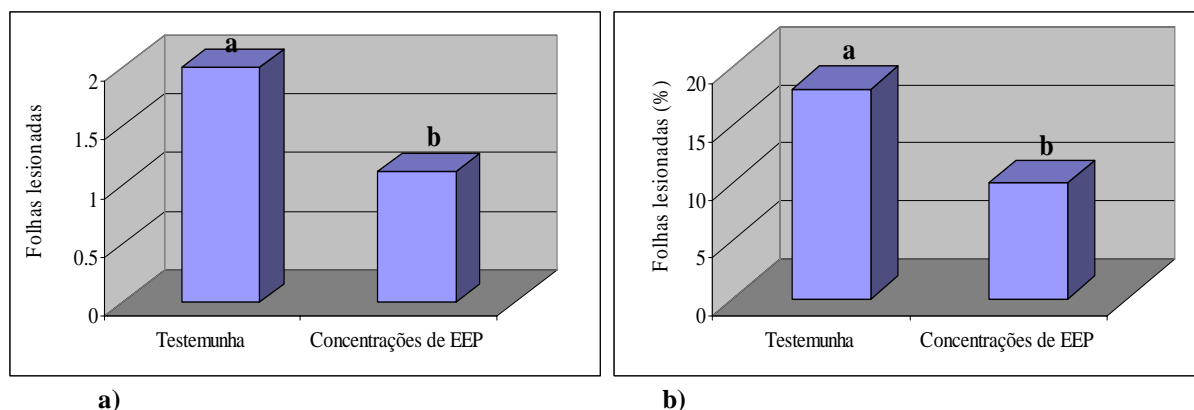


FIGURA 1 - Média da testemunha sem própolis e dos tratamentos com aplicação de EEP, do número de folhas lesionadas/ planta e da porcentagem de folhas lesionadas/ planta, pela cercosporiose em mudas de cafeeiro Catuaí vermelho IAC - 99.

A comprovação da atuação da própolis como promotor de indução de resistência às plantas de café e os possíveis mecanismos de resistência ainda carecem de maiores elucidaciones e estudos, haja vista ser este um trabalho inicial. Além da indução de resistência, acredita-se também na formação de uma camada de cera impermeabilizante sobre as folhas, causando assim um impedimento físico à penetração do fungo. Outro fato a se ressaltar é a pequena diferença nos valores de eficiência entre as duas características analisadas, isso certamente devido à grande correlação entre as variáveis.

Avaliação da severidade da cercosporiose

O número de lesões/ planta na média das concentrações de EEP foi 29,86 % inferior ao da testemunha, sendo de 2,11 o número de lesões/ planta na testemunha e 1,48 na média dos tratamentos onde se aplicou própolis (Figura 2a). Novamente ressalta-se que a significância entre as doses talvez não tenha ocorrido devido a pouca infecção pela cercosporiose durante o experimento, ou pelo alto poder protetor do EEP até mesmo em baixas dosagens. A redução na severidade da doença pode ter ocorrido devido a vários fatores em conjunto ou em separado, sendo estes fatores tais como à ativação pela própolis de genes que propiciaram uma possível indução de resistência pelas plantas, e a formação de uma camada de cera sobre a folha, pois a cera da própolis agiria impermeabilizando a folha e impedindo o fungo de penetrar na mesma. De modo análogo, a própolis é utilizada na colméia para envernizar o seu interior e os alvéolos dos favos com fins anti-sépticos (Moraes et al., 1998).

A porcentagem de área foliar lesionada ao final do experimento (%AFLF) teve um comportamento inverso, ou seja, à medida que aumentou - se à dose de própolis, diminuiu a porcentagem de área foliar lesionada, isso até a dose de 1,79 % de EEP em água. A aplicação da calda final na dose de 1,79% de EEP proporcionou uma área lesionada de 0,28% contra 1,15% da testemunha, ou seja, com uma eficiência de 32,2 %. A partir desta dose ocorreu um pequeno acréscimo na porcentagem de área foliar lesionada, talvez pelo fato da menor pressão no pulverizador durante as aplicações, propiciada pela maior quantidade de partículas de cera nas doses mais altas, o que impediu uma aplicação mais uniforme do produto nas plantas (Figura 2b).

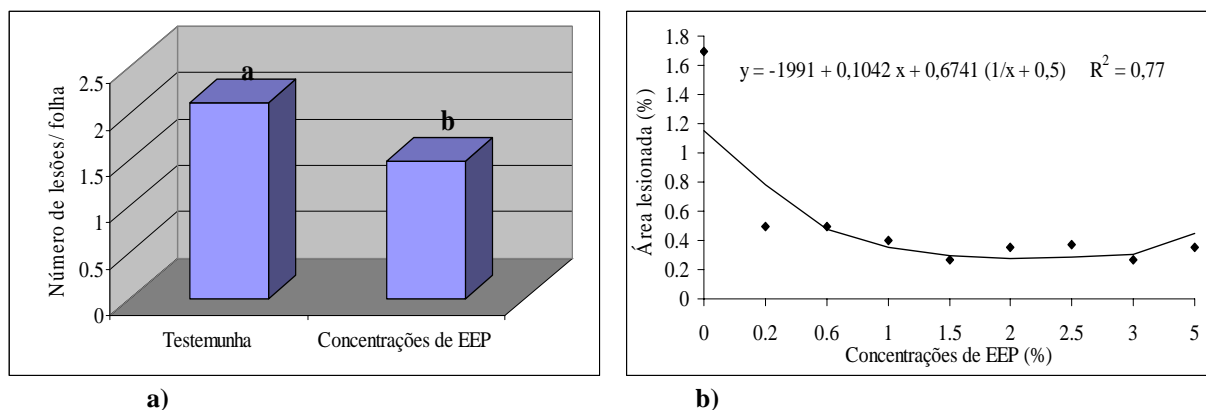


FIGURA 2 - Média da testemunha sem própolis e dos tratamentos com aplicação de EEP, do número de folhas lesionadas/planta e da porcentagem de folhas lesionadas/planta, pela cercosporiose em mudas de cafeeiro Catuaí vermelho IAC - 99.

Características de desenvolvimento: Desfolha, porcentagem de desfolha, número de folhas por planta, área foliar e massa seca da parte aérea

Não foram verificadas diferenças estatísticas para a desfolha, o número de folhas/planta, área foliar e massa seca da parte aérea. Dessa forma, a aplicação da própolis não propicia nenhum atraso ao desenvolvimento das plantas quando pulverizado de forma foliar. Além de não prejudicar o desenvolvimento das mudas, o EEP não promoveu nenhum tipo de fitotoxicidade, quando aplicado, via foliar, até a concentração máxima utilizada neste experimento, de 5 %. Para a área foliar e a massa seca da parte aérea foi observada uma pequena tendência de aumento destas variáveis, nas concentrações entre 1,5 e 3,0 %. Novos estudos são recomendados para verificar estes resultados, aumentando principalmente o tempo em que o experimento esteve instalado, dois meses, considerado pouco, para que houvesse diferenças.

Conclusões

- O EEP diminuiu a incidência e a severidade da cercosporiose, independentemente da concentração utilizada.
- O EEP aplicado via foliar, em mudas de cafeeiro, diminui a incidência e a severidade da cercosporiose de forma mais eficiente na concentração de 1,79 % do extrato, preparado com 16% de própolis bruta.
- A presença da própolis não apresentou efeito negativo no desenvolvimento da planta até a dose de 5 % de EEP na calda pulverizada.
- Foram verificadas tendência de aumento na área foliar e massa seca da parte aérea, entre as concentrações de 1,5 e 3 % de EEP na calda de pulverização (EEP + água).

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, S. R. Doenças do cafeeiro. In: RENA, A. B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba-SP: POTAFÓS, 1986. 391-399 p.
- BREYER, H. F. E. Própolis-produção com *Apis mellifera* L. In: CONFERÊNCIA BRASILEIRA DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina. **Resumos e Palestras...** Teresina: CBA, 1996. p. 193-197.
- CAVALCANTI, L. S. Indução de resistência a *Verticillium dahlia* Kleb. em plântulas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) cv. Theobahia, por Benzotiadiazole (BTH). 2000. 82 p. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5^a Aproximação. Viçosa, MG, 1999. 359 p.
- GHISALBERT, I. E. L.; JEFFERIES, P. R.; LANTERI, R. Potencial drugs from própolis. In: FRIGERIO, A.; GHISALBERTI, E. L. (Ed.). **Mass spectrometry in drugs metabolism**. New York: Plenum Press, 1977. p. 111-130.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. **Bee World**, London, v. 60, n. 2, p. 59-84, 1979.
- MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química nova**, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 529-534, set./out. 1996.

MATIELLO, J. B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A. W. R.; ALMEIDA, S. R.; FERNANDES. Cultura de café no Brasil: novo manual de recomendações. Rio de Janeiro: **MAPA/PROCAFÉ**, 2002. 387 p.

MAZZUCO, H. Utilização da própolis e álcool etílico no controle de *Salmonella* em rações avícolas. 1994. p. 98. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

MORAES, R. M.; ALVES, M. L. T. M.; CELSO, L. **Própolis: produção, propriedades, usos**. Pindamonhangaba: Instituto de Zootecnia, Centro de apicultura tropical, 1998. 29 p.

POZZA, A. A. Influencia da nutrição nitrogenada e potássica na intensidade da mancha de olho pardo (*Cercospora coffeicola*) em mudas de cafeeiro. 1999. 70 p. **Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.