



USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATO DE PRÓPOLIS NO CONTROLE DE *Aspergillus* spp. EM AMÊNDOAS DA CASTANHA-DO-BRASIL

The use of essential oils and extract of propolis in the control of *Aspergillus* spp.
in Brazilian nut almonds

Nadia Rosana Matos Soares¹, Nara Lúcia Perondi Fortes² e Paulo Fortes Neto³

RESUMO

O controle alternativo do *Aspergillus* spp. de amêndoas de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) pode minimizar o uso de agrotóxicos e evitar danos ao ambiente e ao agricultor. O trabalho teve como objetivo avaliar a ação antifúngica do óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) e pracaxi (*Pentachletra macroloba*), bem como extrato alcoólico de própolis sobre o crescimento micelial do *Aspergillus* spp. Os óleos e extrato de própolis nas concentrações de 0, 4, 8, 16, 32 e 64 mL L⁻¹ foram misturados ao meio BDA, para a inoculação do fungo. O desenvolvimento dos fungos foi determinado pela medição do diâmetro micelial após 24, 48 e 96 h da inoculação. O delineamento foi casualizado com 6 tratamentos e 7 repetições. Os resultados indicaram que o uso de própolis a partir de 4 mL L⁻¹ foi mais eficiente do que a dose de 64 mL L⁻¹ dos óleos na inibição do crescimento do *Aspergillus* spp. Assim, a própolis, pode ser considerada promissora como antifúngico natural para controlar o *Aspergillus* spp.

¹ Mestre pelo Programa de pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade de Taubaté (UNITAU), Taubaté, SP e Coordenadora do Instituto Macapaense do Melhor Ensino Superior, IMMES, Macapá, AP. E-mail: soaresnadia@ig.com.br

Palavras-chave: Atividade Antifúngica. Biofungicidas. Crescimento Micelial. Fungo fitopatogênico.

² Professora do Programa de pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade de Taubaté-SP, Brasil. Doutora em Agronomia. E-mail: narafortes@gmail.com

ABSTRACT

The alternative control of *Aspergillus* spp. of Brazilian nut almonds (*Bertholletia excelsa*) can minimize the use of agrochemicals and avoid damage to the environment and the farmer. This work aimed to evaluate the antifungal action of andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) and pracaxi (*Pentachletra macroloba*) oil and propolis extract on the mycelial growth of *Aspergillus* spp. The oils and propolis extract in the concentrations of 0, 4, 8, 16, 32, and 64 mL L⁻¹ were mixed with BDA medium, for the inoculation of the fungus. The fungus development was determined by measuring the mycelial diameter after 24, 48, and 96 h of inoculation. The design was randomized with 6 treatments and 7 repetitions. The results indicated that the using of propolis from 4 mL L⁻¹ was more efficient than the dose of 64 mL L⁻¹ of oils in inhibiting the growth of *Aspergillus* spp. Thus, propolis can be considered promising as a natural antifungal to control *Aspergillus* spp.

³ Professor do Programa de pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade de Taubaté-SP, Brasil. Doutor em Agronomia. E-mail: paulo.fortes@unitau.br

Recebido em: 17/06/2020

Aceito para publicação em: 03/09/2020

Correspondência para:
soaresnadia@ig.com.br

Keywords: Antifungal Activity. Biofungicides. Mycelial Growth. Phytophogenic Fungi.

Introdução

A produção de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.), em 2018, foi estimada em 34.169 toneladas coletadas numa área distribuída entre os estados do Acre, Amapá, Amazônia, Mato Grosso, Pará, Rondônia e Roraima (IBGE, 2018). A coleta é realizada após a queda do ouriço (fruto) na superfície do solo, a qual provoca danos mecânicos que favorecem a penetração dos microrganismos nas castanhas que estão dentro do ouriço. O crescimento dos microrganismos na superfície das castanhas, além de ocasionar a deterioração, promove a produção de micotoxinas nas amêndoas (HOLLINGER e EKPERIGIN, 1999). Dentre as micotoxinas, têm sido constatadas a presença das aflatoxinas, produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. arachidicola*, *A. bombycis* e *A. pseudotamarii* e que são substâncias cancerígenas para humanos e animais (TANIWAKI et al., 2017).

O controle do *Aspergillus* spp. é realizado com aplicações de fungicidas, cujos resultados são contestáveis, pois, além de favorecer o desenvolvimento de resistência destes fitopatógenos, provoca ainda o risco de contaminação do ambiente, visto que alguns dos fungicidas utilizados no controle contêm substâncias persistentes, que ao serem manipuladas pelos agricultores poderão ser liberadas para o solo e a água, contaminar a biota e os recursos naturais, além de provocar danos à saúde (BETTIOL, 2008).

Como na maioria das vezes, as amêndoas são consumidas *in natura*, é importante o desenvolvimento de estudos para avaliar o controle do *Aspergillus* spp. com produtos alternativos de origem natural, tais como óleos de espécies vegetais e extratos de própolis. Pesquisas realizadas *in vitro* revelam o potencial de óleos de espécies vegetais e extratos de própolis no controle de fungos fitopatogênicos, devido à presença de compostos com propriedades antimicrobianas, como alcaloides, flavonoides, esteroides, ligninas, terpenos e benzenoides em sua composição química (MONZOTE et al., 2012; MACHADO et al., 2015; LORINI et al., 2016; FONTANA et al., 2017).

Vários estudos têm avaliado a eficiência de óleos vegetais de alecrim (*Salvia rosmarinus*), alho (*Allium sativum* L.), babaçu (*Attalea speciosa* (Mart. ex Spreng)), canela (*Cinnamomum verum* J. Presl.), coco (*Cocos nucifera* L.), copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry.), eucalipto (*Eucalyptus* spp), funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.), hortelã (*Mentha* spp), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.), nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e pau rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke.) no controle de fungos patogênicos de plantas (SILVA et al., 2011; LORINI et al., 2016; ALMEIDA et al., 2017; BONAPAZ et al., 2019). Estudos utilizando óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) e pracaxi (*Pentachletra macroloba*) na inibição do crescimento de fungos causadores de doenças em plantas são poucos ou raros. Entretanto, algumas pesquisas testando o óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) como os realizados por Machado et al. (2013), no controle micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* e de Sousa et al. (2015) no controle de *Fusarium* spp., constataram que o óleo de andiroba, nas concentrações (2, 4, 6, 8 e 10 mL L⁻¹) utilizadas não foi eficiente para inibir o crescimento micelial dos fungos. Em relação ao uso de óleo de pracaxi (*Pentachletra macroloba*), Machado et al. (2015) verificaram que ele não foi eficiente no controle do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Já o uso de extrato alcoólico de própolis, tem apresentado registros sobre a eficiência antifúngica no controle *in vitro* de *Oidium* spp., *Elsione ampelina*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Botrytis cinerea* (MORAES et al., 2011; MARINI et al., 2012; PASTANA et al., 2016; WUADEN et al., 2018). Porém, em relação à ação antifúngica do extrato de própolis sobre o *Aspergillus* spp., os estudos têm revelado resultados contraditórios. Carvalho et al. (2019) e Lorini et al. (2018) constataram que a própolis não inibiu o crescimento micelial do *Aspergillus* spp. isolado de sementes de cebola e pepino. Por outro lado, Souza et al. (2017), testando diferentes concentrações de extratos de própolis, verificaram uma redução no crescimento micelial do *Aspergillus* spp. com o aumento na concentração da própolis.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de óleos vegetais de andiroba (.) e pracaxi (e extratos alcoólicos de própolis sobre o crescimento micelial de *Aspergillus* spp. em isolados de amêndoas de castanha-do-brasil ()).

Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade de Taubaté - Taubaté (SP), Departamento de Ciências Agrárias. As sementes de andiroba (.) e pracaxi (.) foram adquiridas em duas localidades da Associação de Produtores Agrícolas da Fazendinha, sendo que uma das localidades se situa ao leste no Igarapé Paxicu e a outra no oeste no Igarapé da Fortaleza, no município de Macapá-RR.

Para a extração do óleo de andiroba e pracaxi, as sementes foram selecionadas visualmente, lavadas em água corrente, submetidas ao cozimento, repouso e, posteriormente, foram descascadas e retirada a massa, a qual foi triturada em uma prensa para liberar o óleo (MENDONÇA e FERRAZ, 2007).

A coleta da própolis foi realizada mediante a colocação de quadros extratores de própolis entre o ninho e a tampa das colméias de *Apis mellifera*, distribuídas nos apiários da Região do Mel da Pedreira, no município de Macapá-RR. Assim que os espaços dos extratores foram preenchidos com própolis pelas abelhas, essa foi raspada, colocada em sacos plásticos e armazenada ao abrigo da luz. Após coletada, a própolis foi diluída na proporção de 15 g para 35 mL de álcool de etílico a 70% (GARCIA et al., 2004).

Para o isolamento de *Aspergillus* spp., quatro amêndoas foram desinfetadas superficialmente, com 0,4% de solução de hipoclorito de sódio, por 2 minutos e plaqueadas em meio de cultura de Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e acondicionadas em placas de Petri. Foram preparadas seis placas com quatro amêndoas por placa e colocadas em câmara BOD, durante cinco dias à temperatura de 25°C. Depois, procedeu-se à repicagem do micélio para placas de Petri, contendo o meio de cultura (BDA). As placas de Petri foram mantidas em câmara BOD, com temperatura de 25°C por quatro dias, sob regime alternado de luz e escuro por 12 horas.

A atividade antifúngica dos óleos vegetais e extrato alcoólico de própolis sobre o crescimento micelial do *Aspergillus* spp. foi determinado através da mistura dos óleos de andiroba e pracaxi e extrato alcoólico de própolis em diferentes concentrações no meio de cultura BDA, em temperatura de 40°C. Após a solidificação do meio de cultura, um disco de 4,0 mm de diâmetro do micélio do *Aspergillus* spp. foi colocado no centro das placas, as quais foram mantidas em estufa a uma temperatura de 25°C (PINTO et al., 2003). As avaliações do desenvolvimento micelial do *Aspergillus* spp. foram determinadas medindo-se o diâmetro do micélio (média de duas medidas diametralmente opostas), após 24, 48 e 96 horas da repicagem do fungo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 6, sendo três substâncias (óleos de andiroba e pracaxi, e extrato alcoólico de própolis), em seis concentrações (0, 4, 8, 16, 32 e 64 mL L⁻¹), com 7 repetições por tratamento. O tratamento controle consistiu no cultivo dos fungos em BDA sem adição dos óleos de andiroba e pracaxi, e extrato alcoólico de própolis.

Os resultados foram avaliados, estatisticamente, por meio de análises de variância e os efeitos dos tratamentos foram experimentados pelo teste F. Quando atingida a significância estatística, foi feita a comparação entre médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram calculadas com auxílio do software "SAS for Windows" (SAS, 2000).

Resultados e Discussão

Os resultados do crescimento micelial de *Aspergillus* spp. em meio de culturas contendo diferentes concentrações de óleos de andiroba e pracaxi e extrato alcoólico de própolis, determinados

após 24, 48 e 96 horas de incubação, apresentaram diferenças significativas da testemunha (0 mL L⁻¹) e entre as concentrações utilizadas no teste *in vitro* (Tabelas 1, 2 e 3).

Na primeira avaliação, realizada após 24 horas de incubação, observa-se que o crescimento micelial do *Aspergillus* spp. apresentou uma tendência de redução no crescimento com o aumento das doses de própolis, andiroba e pracaxi, porém os menores valores no crescimento micelial foram determinados no meio de cultura contendo o extrato de própolis, seguido depois pelos óleos de andiroba e pracaxi (Tabela 1). Ainda na Tabela 1, é possível observar que a concentração de 4 mL L⁻¹ de óleo de andiroba e extrato alcoólico de própolis já começaram a inibir o crescimento micelial do *Aspergillus* spp., enquanto com o óleo de pracaxi, a capacidade de inibir o crescimento do fungo foi obtida a partir da concentração de 12 mL L⁻¹.

Tabela 1. Crescimento micelial do fungo *Aspergillus* spp. submetido a três tratamentos (andiroba, pracaxi e própolis) em diferentes concentrações, durante 24 horas de incubação (médias de 5 repetições).

Concentração (mL L ⁻¹)	Óleos		Extrato Alcoólico
	Andiroba	Pracaxi	Própolis
	----- Crescimento micelial (cm) -----		
0	1,40aA*	1,39aA	1,36aA
4	1,38aA	1,35aA	0,91bB
8	1,33bA	1,37aA	0,86cB
16	1,28bcA	1,25bA	0,69dB
32	1,21cA	1,23bA	0,62dB
64	1,09cA	1,15cA	0,57dB

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem significativamente entre si, pelo teste de Duncan a 5%.

O crescimento micelial do *Aspergillus* spp., avaliado após 24 horas com a aplicação de própolis, variou de 1,36 cm de diâmetro na concentração de 0 mL L⁻¹ para 0,57 cm com a aplicação de 64 mL L⁻¹ de própolis, ou seja, essa diferença corresponde a uma inibição de 58,08% no crescimento do fungo. Já as concentrações de andiroba proporcionaram uma variação de 1,40 cm na dose 0 mL L⁻¹ a 1,09 cm na dose com 64 mL L⁻¹, isso corresponde a 22,14% de inibição no desenvolvimento do fungo. Já nas doses de pracaxi, os valores oscilaram entre 1,39 cm na dose 0 mL L⁻¹ para 1,15 cm na dose com 64 mL L⁻¹, resultando em uma redução de 17,26% no crescimento do *Aspergillus* spp.

No segundo período de avaliação referente às 48 horas, observa-se, na Tabela 2, que a inibição no crescimento de *Aspergillus* spp. foi mais acentuada nas doses acima de 4 mL L⁻¹ de própolis, quando comparados com os resultados determinados com as doses de andiroba e pracaxi. O crescimento micelial com própolis variou de 6,31 cm na dose com 0 mL L⁻¹ para 1,28 cm com a dose de 64 mL L⁻¹, ou seja, essa variação proporcionou uma redução de 80,98% no desenvolvimento do fungo. A adição de doses de andiroba e pracaxi apresentou a mesma tendência na redução do crescimento micelial com inibição de 15,03% e 16,55%, respectivamente, quando comparado aos valores das concentrações de 0 e 64 mL L⁻¹.

No período de 96 horas, nota-se, na Tabela 3, que a inibição no crescimento do *Aspergillus* spp. continua mais acentuada com a aplicação das doses de extratos alcoólicos de própolis e a diferença entre as doses de 0 e 64 mL L⁻¹ proporcionou uma inibição de 70,43% no crescimento do fungo. Para as mesmas doses com óleo de andiroba e pracaxi, a redução na inibição do desenvolvimento do *Aspergillus* spp. foi de 6,82% para andiroba e 13,34% com pracaxi.

Tabela 2. Crescimento micelial do fungo *Aspergillus* spp. submetido a três tratamentos (andiroba, pracaxi e própolis) em diferentes concentrações, durante 48 horas de incubação (médias de 5 repetições).

Concentração (mL L ⁻¹)	Óleos		Extrato Alcoólico
	Andiroba	Pracaxi	Própolis
	-----Crescimento micelial (cm) -----		
0	6,32aA*	6,22aA	6,31aA
4	6,15aA	6,01aB	4,15bC
8	5,77bA	5,79abA	4,20bB
16	5,63bA	5,45bB	3,34cC
32	5,43cA	5,21cB	2,12dC
64	5,37cA	5,19cB	1,28dC

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem significativamente entre si, pelo teste de Duncan a 5%.

Tabela 3. Crescimento micelial do fungo *Aspergillus* spp. submetido a três tratamentos (andiroba, pracaxi e própolis) em diferentes concentrações, durante 96 horas de incubação (médias de 5 repetições).

Concentração (mL L ⁻¹)	Óleos		Extrato Alcoólico
	Andiroba	Pracaxi	Própolis
	-----Crescimento micelial (cm) -----		
0	7,18aA*	7,12aA	7,17aA
4	7,15aB	7,23aA	4,38bC
8	6,91abA	6,78bB	4,19bcC
16	6,77bA	6,37cB	3,28cC
32	6,72bA	6,28cdB	2,89cC
64	6,69bA	6,17dB	2,12dC

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem significativamente entre si, pelo teste de Duncan a 5%.

Comparando os percentuais de inibição do crescimento micelial do *Aspergillus* spp. durante os períodos de 24, 48 e 96 horas de incubação, com as doses de 4 a 64 mL L⁻¹ de extratos alcoólicos de própolis e óleos de andiroba e pracaxi, verifica-se que o efeito inibitório tende a diminuir com o passar do tempo (Figura 1).

Entretanto, pode-se destacar, na Figura 1, que o extrato alcoólico de própolis apresentou o melhor resultado quanto à inibição do crescimento do *Aspergillus* spp. em todas as cinco concentrações (4, 8, 16, 32 e 64 mL L⁻¹) e em todos os períodos de avaliação (24, 48 e 96 horas), enquanto os óleos de andiroba e pracaxi apresentaram capacidade de inibir o crescimento do fungo à medida que sua concentração foi aumentada para 8 mL L⁻¹.

Diversos trabalhos realizados com extratos de própolis têm apresentado resultados semelhantes aos encontrados neste estudo e com pequenas variações em relação ao tempo de incubação, concentrações do extrato de própolis e espécies de fungos. Machado et al. (2015), testando extratos de própolis nas concentrações de 0, 4, 8, 16, 32 e 64 mL L⁻¹, observaram inibição no crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Colletrotrichum gloesporioides*, a partir das 48 horas de incubação, com a adição de 16 mL L⁻¹ de extrato de própolis. Medeiros et al. (2017), analisando diferentes tipos de própolis sobre a *Phytophthora* sp., constataram que o melhor resultado foi obtido após as 48 horas de incubação com 10 mL L⁻¹ de própolis. Esses resultados coincidem com o

observado no presente estudo, em que a maior eficiência da própolis no controle do *Aspergillus* spp. foi verificada após 48 horas de contato com 32 mL L⁻¹ de extrato de própolis.

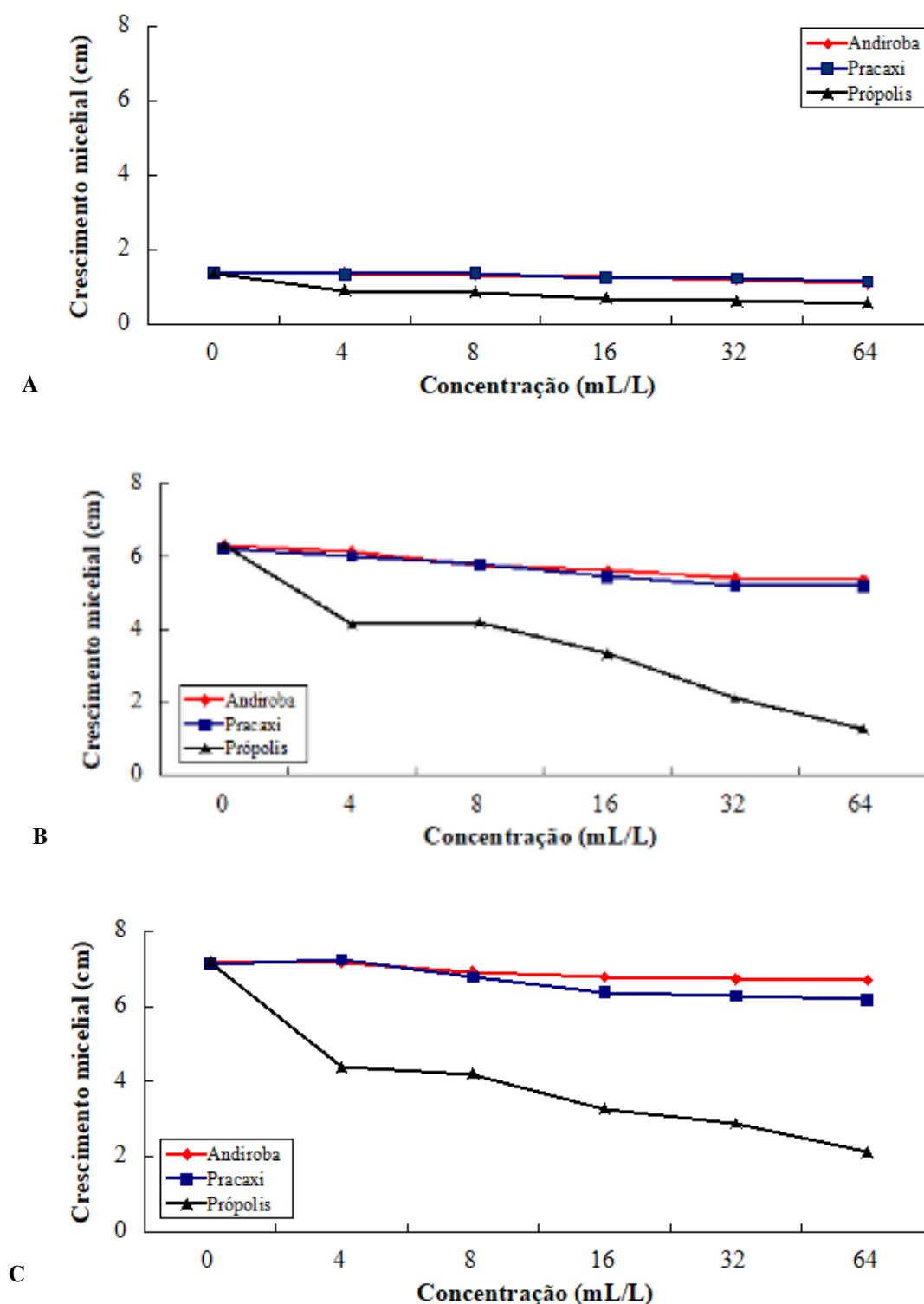


Figura 1. Crescimento micelial de *Aspergillus* spp. em presença de diferentes concentrações de óleos de andiroba, pracaxi e extrato de própolis durante 24 horas (A), 48 horas (B) e 96 horas (C).

Por outro lado, Wuaden et al. (2018) constataram que a inibição no crescimento de *Botrytis cinerea* começou após as 72 horas, com a adição de própolis na concentração de 65 mL L⁻¹. Pastana et al. (2016), verificando concentrações de própolis na inibição do desenvolvimento de *Colletotrichum*

gloeosporioides, também observaram a redução do micélio, a partir das 72 horas de incubação com própolis na concentração de 65 mL L⁻¹. Os resultados sugerem que a eficiência da própolis na inibição dos fungos pode estar associada ao tempo de exposição, à concentração do extrato de própolis, à composição química da própolis e às espécies de fungos.

Deve-se ressaltar que os resultados observados nesses estudos com o extrato alcoólico de própolis não estão relacionados apenas às concentrações ou espécies de fungo, mas também podem estar associados à origem da própolis testada (MACHADO et al., 2015). Pois, de acordo com Marcucci (2000), a própolis possui substâncias com complexas composições químicas e isso está relacionado à disponibilidade sazonal da flora local. Além disso, a própolis originária das regiões tropicais apresenta uma composição química muito variável, sendo rica em terpenóides, derivados de ácidos orgânicos e flavonóides (SALOMÃO et al., 2008). Essas variações na composição química são responsáveis pelas diferenças nas atividades antimicrobianas observadas nos estudos com a própolis (FERNANDES JÚNIOR et al., 2006; GONZALEZ et al., 2006).

Os resultados verificados com as concentrações do óleo de andiroba e os tempos de incubação apresentaram variação no crescimento micelial, assim, foi possível constatar que as concentrações de 32 mL L⁻¹ após 24 e 48 horas de incubação e 16 mL L⁻¹ após 96 horas, foram as que apresentaram a melhor eficiência na redução do crescimento micelial do *Aspergillus* spp. (Tabelas 1, 2 e 3). Alguns estudos para testar a eficiência do óleo de andiroba na inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos, têm revelado resultados inconsistentes de controle em função da concentração utilizada e da espécie de fungo testada. Dessa forma, Sousa et al. (2015), avaliando o controle de *Fusarium* spp. do pimentão com óleo de andiroba até 1,25 mL L⁻¹, constataram que não houve inibição no crescimento micelial do fungo. Machado et al. (2013), testando concentrações mais elevadas de óleo de andiroba sobre o crescimento *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, isolados do fruto do mamão, verificaram que o óleo, na concentração até 13 mL L⁻¹, não foi eficiente na inibição do crescimento micelial. A ineficiência verificada por esses autores, pode estar relacionada à variação da composição química do óleo que varia conforme o tipo de solvente utilizado na extração dos ácidos graxos e compostos fenólicos das sementes da andiroba (NOVELLO, 2015). Sendo assim, Sousa et al. (2012), testando diferentes concentrações de óleos vegetais, verificaram que o óleo de andiroba apresentou uma capacidade de inibir o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* isolado dos frutos da pimenta, à medida que a concentração foi aumentada para 10 mL L⁻¹. Provavelmente o efeito inibitório do óleo de andiroba sobre o crescimento de *Aspergillus* spp., observado neste trabalho, esteja relacionado à utilização de concentrações acima de 10 mL L⁻¹ de óleo de andiroba, pois a inibição do crescimento micelial foi mais acentuada com a adição de óleo entre 16 e 32 mL L⁻¹ (Tabelas 1, 2 e 3).

Analisando os resultados do crescimento micelial do *Aspergillus* spp com as concentrações de óleos de pracaxi e o tempo de incubação, observa-se que os melhores resultados de inibição micelial foram obtidos com 32 mL L⁻¹ após 32 e 96 horas de incubação e 64 mL L⁻¹ após 24 horas (Tabelas 1, 2 e 3). Esses resultados reforçam a hipótese de que a eficiência da ação antifúngica dos óleos vegetais pode estar relacionada à concentração do óleo, pois no único trabalho realizado por Machado et al. (2015), testando o óleo de pracaxi no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, os autores observaram que a aplicação do óleo na concentração até 13 mL L⁻¹ não foi suficiente para inibir o crescimento micelial do fungo.

De uma maneira geral, foi possível constatar que os resultados com o extrato alcoólico da própolis na inibição do crescimento micelial do *Aspergillus* spp. foram similares aos observados por outros autores (FERNANDES JÚNIOR et al., 2006; GONZALEZ et al., 2006; SALOMÃO et al., 2008; MORAES et al., 2011; MONZOTE et al., 2012; MACHADO et al., 2015; PASTANA et al., 2016; WUADEN et al., 2018). Por outro lado, diferentemente do extrato de própolis, que apresentou inibição do crescimento do *Aspergillus* spp. em todas as concentrações utilizadas (4, 8, 16, 32 e 64 mL L⁻¹), os resultados com os óleos de andiroba e pracaxi apresentaram a capacidade de inibição do fungo, à medida que sua concentração ficou acima de 32 mL L⁻¹.

Conclusões

O extrato de própolis, em todas as concentrações e períodos de incubação testados, foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo *Aspergillus* spp. extraídos das amêndoas de castanha-do-brasil, em relação aos óleos vegetais de andibora e pracaxi.

Entre os óleos vegetais testados, o de andibora demonstrou ser mais eficiente no controle do *Aspergillus* spp. quando comparados aos resultados do óleo de pracaxi.

O uso do extrato alcoólico de própolis no controle de *Aspergillus* spp. pode ser uma alternativa viável e segura para melhorar a qualidade sanitária de amêndoas de castanha-do-brasil coletadas nos sistemas agroflorestais.

Referências

- ALMEIDA, E. N.; et al. Potenciais alternativas com extratos vegetais no controle da pinta preta do tomateiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, n. 4, p. 687-694, 2017.
- BETTIOL, W. Conversão de sistemas de produção. In: POLTRONIERI, L.S.; ISHIDA, A.K.N. (Eds.). **Métodos Alternativos de Controle de Insetos-Praga, Doenças e Plantas Daninhas**: Panorama atual e perspectivas. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. p. 289-308.
- BONAPAZ, L. S.; et al. Potencial fungitóxico de óleos voláteis e extratos vegetais no controle alternativo in vitro de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*, **Revista de Ciências Ambientais**, v.13, n. 3, p.1-10, 2019.
- CARVALHO, B. L.; et al. Tratamento de sementes de cebola com extrato de própolis e *Plectranthus amboinicus* no controle de *Aspergillus* sp. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 13, n.1, p.12-18, 2019.
- FERNANDES JÚNIOR, A.; et al. Antimicrobial activity of *Apis mellifera* propolis from three regions of Brazil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p.294-297, 2006.
- FONTANA, D. C.; et al. Uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão parda do pessegueiro. **Revista Cultivando o Saber**, v.10, n.2, p.148-165, 2017.
- GARCIA R. C.; et al. Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre a *Pasteurella multocida* "in vitro". **Acta Scientiarum, Animal Science**, v. 26, n.1, p. 69-77, 2004.
- GONSALEZ, G. Z; et al. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, São Paulo-SP, v. 12, n. 2, p.276-284, 2006.
- HOLLINGER, K; EKPERINGIN, H. E. Mycotoxicosis in food producing animals. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 15, n. 1, p. 133-165, 1999.
- IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática. Banco de Dados Agregados**. Tabela 289: Quantidade produzida na extração vegetal, por tipo de produto extrativo. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo.asp?e=c&p=VS&z=t&o=18>. Acesso em: 11 abril. 2020.
- LORINI, A.; et al. Efeito volátil de óleos essenciais no desenvolvimento de patógenos em amêndoas de castanhas-do-Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 2, p.121-126, 2016.
- LORINI, A.; et al. Composição química e atividade antifúngica de própolis sobre *Aspergillus flavus*. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 34, n. 5, p. 1298-1307, 2018.
- MACHADO, R. M. A.; et al. Avaliação de óleos essenciais sobre o crescimento *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. **Perspectivas online: Biologia e Saúde**, v. 8, n.3, p.64-73, 2013.
- MACHADO, P. P.; et al. 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**, Cassilândia-MS, v. 2, n. 4, p.31-37, 2015.
- MARCUCCI, M. C.; et al. Evaluation of phenolic compounds in Brazilian propolis from different geographic regions. **Zeitschrift fur Naturforschungv**, v. 55, n. 1, p.76-81, 2000.
- MARINI, D.; et al. Efeito antifúngico de extratos alcoólicos de própolis sobre patógenos da videira. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 79, n. 2, p. 305-308, 2012.
- MEDEIROS, T.; et al. Teste in vitro de controle alternativo *Phytophthora* sp. com extratos alcoólicos. **Cadernos de Agroecologia**. Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF, v.13, n.1, 2018.
- MENDONÇA, A. P.; FERRAZ, I. D. K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 37, n.3, p.353-364, 2007.
- MONZOTE, L.; et al. In vitro antimicrobial assessment of Cuban propolis extracts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 8, p.978-984, 2012.
- MORAES, W. B; et al. Aplicação foliar de fungicidas e produtos alternativos reduz a severidade do oídio no tomateiro. **Nucleus**, v. 8, n. 2, p.57-68, 2011.

- NOVELLO, Z. **Extração e caracterização química de extratos obtidos de matrizes vegetais utilizando n-butano pressurizado como solvente**. 2015. 55 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), Erechin, 2011.
- PASTANA, R. F.; et al. Uso da própolis no controle “in vitro” do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose em berinjela. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 3, n. 1, p.12–15, 2016.
- PINTO, T. J. A.; et al. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2003.
- SALOMÃO, K; et al. Brazilian propolis: correlation between chemical composition and antimicrobial activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, International Journal**, v. 5, n. 3, p.317-324, 2008.
- SOFTWARE STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS. Procedures guides. Version 6. Cary [EstadosUnidos]: SAS by SAS INSTITUTE –Inc. Cary, NC, USA. 2000.
- SILVA, R. A.; et al. Inibição do crescimento micelial e germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* na seringueira pelo óleo de neem. **Nucleus**, v. 8, n.1, p.295-304, 2011.
- SOUSA; R. M. S.; et al. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p.42-47, 2012.
- SOUSA, B. C.; et al. Controle alternativo de *Fusarium* spp. com quatro óleos vegetais. **Cadernos de Agroecologia**, v.10, n.3, p.1-5, 2015.
- SOUZA, E. P.; et al. Doses de extrato de própolis no controle do fungo *Aspergillus* sp e no tratamento de sementes de pepino. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering** v. 11(4): 360-364, 2017.
- TANIWAKI, M. H.; et al. Biodiversity of mycobiota throughout the Brazil nut supply chain: From rainforest to consumer, **Food Microbiology**, v. 61, p.14-22, 2017.
- WUADEN, C. R.; et al. Atividade antifúngica do extrato alcoólico de própolis, álcool de cereais e do óleo essencial de manjeriço sobre *Botrytis cinerea*. **Colloquium Agrariae**, v.14, n.2, p.48-55, 2018.