

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS

UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DA PRÓPOLIS VERDE EM SEMENTES DE  
MILHO PARA O CONTROLE DE *Aspergillus* sp.

REBECA SANTISMA DE JESUS ALMEIDA

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
OUTUBRO – 2023

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DA PRÓPOLIS VERDE EM SEMENTES DE  
MILHO PARA O CONTROLE DE *Aspergillus* sp.**

**RBECA SANTISMA DE JESUS ALMEIDA**


Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Colegiado de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientadora: Profa. Dra. Geni da Silva Sodré  
Coorientadoras: Dra. Ana Catia Santos da Silva  
Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares


**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
OUTUBRO – 2023**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**


**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO  
DE CURSO DE REBECA SANTISMA DE JESUS ALMEIDA**

Documento assinado digitalmente  
 **GENI DA SILVA SODRE**  
Data: 03/11/2023 09:57:36-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr<sup>a</sup>. Geni da Silva Sodré  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
(Orientadora)

Documento assinado digitalmente  
 **TERESA APARECIDA SOARES DE FREITAS**  
Data: 31/10/2023 15:07:48-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr<sup>a</sup>. Teresa Aparecida Soares de Freitas  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Examinadora 1

Documento assinado digitalmente  
 **CARIZE DA CRUZ MERCES**  
Data: 03/11/2023 17:31:01-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

M.Sc Carize da Cruz Mercês  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (Aposentada)  
Examinadora 2

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**  
**OUTUBRO – 2023**

## **Agradecimentos**

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por ter me dado forças, saúde, oportunidades e recurso financeiro para poder cursar a graduação em uma Universidade Pública renomada e está realizando um sonho que a alguns anos atrás parecia distante de ser alcançado.

Aminha mãe Crispina Ronilda, por todos os seus esforços, apoio e sacrifícios que fez para me manter na Universidade. A senhora é uma das principais responsável por moldar-me como ser humano e ter muito orgulho de quem me tronei, além de ser um dos principais motivos da minha dedicação, serei eternamente grata a senhora. Ao Sr. José Carlos pelo apoio e por ajudar a minha mãe enquanto estava realizando a graduação, além do grande incentivo que o senhor deu aos meus estudos.

As minhas amigas Tatiane e Geisimara que estão na minha vida desde o ensino médio me apoiando, saiba que a amizade de vocês foi essencial na minha caminhada, são importantes todas as risadas e lágrimas que compartilhamos, obrigada por permitir dividir momentos tão incríveis, vocês também são responsáveis por ter me tornado uma pessoa melhor. A Jaqueline que sempre me apoiou e ajudou a minha mãe enquanto eu estava estudando, sua amizade é uma joia preciosa que sempre irei manter e guardar.

Muitos dizem que a Universidade não é local de fazer amigos, entretanto eu fui muito além, não fiz só amigos, mas sim uma família, assim para vocês minha família da UFRB Jean, Irene e Clécia sou muito grata por estarem comigo em toda minha jornada no curso superior. Nos conhecemos desde o primeiro semestre e cultivamos apesar das desavenças que ocorria, nossa amizade até hoje, com vocês eu aprendi a importância do apoio para além da sala de aula, obrigada por dividir comigo até a alimentação. Estarei sempre aqui para o que precisarem.

A Angélica por me incentivar a entrar no Grupo de Pesquisa que me proporcionou muita aprendizagem, além da bolsa que ajudou a me manter na Universidade, você é uma pessoa incrível e zelo muito por sua amizade. A Jiclecia Almeida, que formava dupla comigo no laboratório, obrigada por seu companheirismo, sua dedicação e amizade, além de estar comigo o tempo todo

no laboratório dizendo que este trabalho iria dá certo, você foi muito importante para que ele realmente desse certo.

A Joeferson namorado que UFRB me deu. Você foi essencial para me manter firme na minha jornada, tenho muito que agradecer por você dividir todos os momentos da graduação comigo, já que éramos do mesmo semestre e curso, o que começou com estudos para cálculo tornou um sentimento forte. Você é meu abrigo te amo muito, obrigada por me auxiliar no entendimento de estatística, você é um profissional incrível.

A minha orientadora professora Dr<sup>a</sup>. Geni da Silva Sodré, que se tornou uma peça fundamental no meu percurso acadêmico. Gostaria de expressar minha profunda gratidão por tudo que você fez por mim durante o período da minha graduação. Sua paciência e disposição para sempre me ouvir, mesmo quando eu estava enfrentando desafios e incertezas, foram inestimáveis me deram a força para superar obstáculos e continuar a trabalhar arduamente em meu projeto de pesquisa.

A minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Ana Catia Santos da Silva, você não apenas me guiou academicamente, mas também me ajudou a desenvolver não só minhas habilidades de pesquisa, mas também minha confiança em mim mesmo como estudante. Cada conselho e orientação que você me deu moldaram no meu entendimento mais amplo sobre a Universidade. Além disso, sua paixão pelo que faz é verdadeiramente inspiradora. Sua influência positiva se estende a todos os aspectos da minha vida acadêmica e pessoal.

Ao Núcleo de Estudo dos Insetos – INSECTA, que era praticamente minha segunda casa, sou muito grata a todos os integrantes deste grupo, em especial a Cerilene Machado que segurou na nossa mão e mostrou o caminho da pesquisa.

A minha coorientadora professora Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Firmino Soares a senhora foi essencial para a realização deste TCC. Obrigada por todo o ensinamento e paciência. Ao professor Dr. Carlos Bragança, que me auxiliou na identificação dos fungos, a professoras Dr<sup>a</sup>. Leilane Silveira que me auxiliou no entendimento da estatística deste trabalho, e a professora Dr<sup>a</sup> Teresa Freitas que também me ajudou cedendo o laboratório de sementes e tirando algumas dúvidas referente a semente e a Carize da Cruz Mercês.

Ao Programa de Permanência Qualificada (PPQ), desde o momento em que fui aceito no PPQ, minha jornada na faculdade transformou-se de uma

experiência desafiadora em um caminho mais claro e acessível para o sucesso. O suporte financeiro que o PPQ me proporcionou foi crucial para minha permanência na instituição. Sem esse auxílio, eu teria enfrentado dificuldades financeiras que poderiam ter interrompido meus estudos. Graças ao PPQ, pude concentrar-me totalmente em minha educação, com poucas preocupações constantes relacionadas a despesas acadêmicas e materiais didáticos.

A residência universitária Trio Elétrico, que foi mais do que apenas um lugar para morar, foi um lar, repleto de memórias inesquecíveis, amizades, fofocas animadas e festas memoráveis. Estou profundamente grata por ter tido a oportunidade de viver nesta residência, onde encontrei não apenas um teto sobre minha cabeça, mas também um lugar onde verdadeiramente pertenci. O ambiente fez com que eu me sentisse parte de algo maior, uma família longe de casa. Os momentos compartilhados na cozinha, as noites de estudo intermináveis na sala vip tornaram-se parte integrante da minha jornada universitária.

Assim, gostaria de agradecer a todos, mas em especial a Roberta que foi a primeira a me acolher na residência. Ao meu amigo Rodolfo prefeito da residência companheiro de todos os momentos, que geralmente para de fazer os seus afazeres para ajudar quem precisa, que tem um coração enorme, que me mostrou a importância de fazer *network* e de ocupar todos os espaços na Universidade. Você me proporcionou muitas risadas, sua amizade foi essencial para enfrentar momentos difíceis. A Aliene que me ajudou em vários momentos sou muito grata, com você aprendi que quando as coisas estão difíceis dormir sempre ajuda melhorar.

E por fim, gostai de agradecer a, Cultivar Jr. Consultoria Agrícola, fazer parte dessa Empresa Jr. foi essencial para minha formação profissional. Além desse aspecto, a Cultivar Jr. também se revelou um ambiente rico em amizades. Conheci pessoas incríveis, cuja paixão pelo campo agrícola e pelo crescimento pessoal ecoou com a minha

*“Se chorei ou se sorri, o importante é que  
emoções eu vivi”.*

*(Erasmu Carlos)*

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 A cultura do milho .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Importância Econômica, social e cultural .....</b>	<b>15</b>
<b>2.3 Qualidade fisiológica da semente de Zea mays L.....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 Vulnerabilidade do milho a doenças fúngicas .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5 O uso de produtos naturais .....</b>	<b>20</b>
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Local de elaboração do experimento.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2 Extrato de própolis .....</b>	<b>23</b>
<b>3.3 Avaliação do extrato da própolis bruta.....</b>	<b>24</b>
<b>3.4 Amostra de fungo isolada.....</b>	<b>24</b>
<b>3.5 Experimento In vitro .....</b>	<b>24</b>
<b>3.6 Avaliação in vitro .....</b>	<b>26</b>
<b>3.7 Experimento In vivo.....</b>	<b>26</b>
<b>3.8 Estatística.....</b>	<b>27</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Análise cromatográfica gasosa acoplada a espectroscopia de massa (GG-MS) .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 In vitro.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3 In vivo .....</b>	<b>36</b>
<b>Primeiro experimento .....</b>	<b>36</b>
<b>Segundo experimento.....</b>	<b>39</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>41</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>41</b>



## RESUMO

### UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DA PRÓPOLIS VERDE EM SEMENTES DE MILHO PARA O CONTROLE DE *Aspergillus* sp.

O milho (*Zea mays* L.) é um alimento crucial em muitas regiões, especialmente no Nordeste brasileiro. No entanto, doenças fúngicas, como as causadas pelo *Aspergillus* sp., podem danificar as sementes. Tornando, imprescindível o desenvolvimento de métodos eficazes para o controle de patógenos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de extrato de própolis verde bruta no controle de *Aspergillus* sp. e verificar a sua atuação no tratamento sanitário de sementes de milho (*Zea mays* L.). Foi realizada a preparação de extrato de própolis verde e feito a análise cromatográfica gasosa acoplada a espectroscopia de massa. Seguidamente, realizou-se testes *in vitro*, sendo utilizada quatro concentrações: (0,5%, 1%, 2% e 4%) controle positivo (meio de cultura Saburoud + *Aspergillus* sp) e o controle com Álcool a 10%, com cinco repetições. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com lotes de 25 sementes para dois testes *in vivo* com seis tratamento (controle (água sanitária), as mesmas concentrações de extrato de própolis do teste *in vitro* mais 6%) o segundo tratamento as sementes foram imersas em uma diluição de esporos  $1 \times 10^6$  de *Aspergillus* sp. por cinco minutos, secas e posteriormente tratadas. Foram avaliados incidência fúngicas, a germinação e o vigor de sementes. A análise de variância (ANOVA), e análise de regressão, foi realizada por meio do *software* SISVAR. Assim, a composição química da própolis, são principalmente da classe dos terpenos, ácidos carboxílicos e benzofuranos. No experimento *in vitro*, concentrações mais altas de extrato de própolis (2%, 4% e 6%) mostraram uma notável inibição do crescimento micelial do fungo e o extrato não afetou negativamente a qualidade fisiológica das sementes de milho. Por fim, o extrato de própolis verde mostrou ser uma alternativa promissora para proteger as sementes de milho da contaminação fúngicas, com potencial para melhorar a qualidade do armazenamento.

**Palavras-chave:** Fitossanidade; produto natural; atividade antifúngica; *Zea mays* L.

## ABSTRACT

### USE OF GREEN PROPOLIS EXTRACTS ON *Zea mays* L. SEEDS FOR *Aspergillus* sp.

Corn (*Zea mays* L.) is a crucial food source in many regions, especially in the Brazilian Northeast. However, fungal diseases, such as those caused by *Aspergillus* sp., can damage the seeds. Therefore, the development of effective methods for pathogen control is essential. The objective of this study was to evaluate the effect of raw green propolis extract on the control of *Aspergillus* sp. and its role in the sanitary treatment of corn seeds (*Zea mays* L.). Green propolis extract was prepared, and gas chromatography coupled with mass spectroscopy analysis was performed. Subsequently, *in vitro* tests were conducted using four concentrations: (0.5%, 1%, 2%, and 4%) positive control (Sabouraud medium + *Aspergillus* sp.) and 10% Alcohol control, each with five repetitions. The experimental design was completely randomized, with batches of 25 seeds for two *in vivo* tests with six treatments (control (bleach solution), the same concentrations of propolis extract as the *in vitro* test plus 6%). In the second treatment, seeds were immersed in a spore dilution of  $1 \times 10^6$  *Aspergillus* sp. for five minutes, dried, and subsequently treated. Fungal incidence, germination, and seed vigor were evaluated. Analysis of variance (ANOVA) and regression analysis were performed using the SISVAR software. The chemical composition of propolis mainly comprises terpenes, carboxylic acids, and benzofurans. In the *in vitro* experiment, higher concentrations of propolis extract (2%, 4%, and 6%) showed a significant inhibition of fungal mycelial growth, and the extract did not negatively affect the physiological quality of corn seeds. Finally, green propolis extract proved to be a promising alternative for protecting corn seeds from fungal contamination, with the potential to enhance storage quality.

**Keywords:** Phytosanitary; natural product; antifungal activity; *Zea mays* L.

## 1. INTRODUÇÃO

A agricultura é uma atividade primordial para a subsistência da sociedade, fornecendo alimentos e matérias-primas, tornando-se a base do desenvolvimento econômico no mundo. No entanto, a produção agrícola enfrenta uma série de desafios, a exemplo da infestação por patógenos uma das principais ameaças à segurança alimentar global. De acordo com a *Food and Agriculture Organization - FAO*, estima-se que os prejuízos causados por doenças motivadas por microrganismos podem gerar aproximadamente 40% de perdas a produção agrícola, essa perda pode alcançar por volta de US\$ 220 bilhões (FAO, 2021).

Entre esses patógenos, os fungos do gênero *Aspergillus* são particularmente preocupantes devido à sua alta capacidade de infectar e danificar uma variedade de culturas, incluindo o milho (*Zea mays* L.). Além disso, esse fitopatógeno transmite doença à semente durante o armazenamento, assim, além de alterar a qualidade fisiológica, também produz micotoxinas, que são produtos tóxicos gerado pelo metabolismo secundário do fungo (Rehman et al., 2021).

Ter sementes de qualidade sanitária é um dos fatos que garantem sucesso da cultura (França-Neto et al., 2016). Ademais, a indústria global tem priorizado a qualidade da semente, tendo uma perspectiva de mercado para 2025 de aproximadamente 92,32 bilhões de dólares de investimento (Cardarelli et al., 2022).

Entretanto, o controle desses fitopatógenos se dá normalmente por meio químico. No Brasil é comum o uso indiscriminado de agrotóxicos, que pode gerar diversos problemas, dentre eles o aumento de resistência fúngica, risco a saúde humana e animal como intoxicação e infertilidade, a não biodegradabilidade, ou seja, resíduos tóxicos que poluem o ambiente. Desse modo, agricultores e pesquisadores têm procurado de forma frequente opções mais eficazes e sustentáveis de proteger as culturas e combater patógenos como *Aspergillus* sp., reduzindo simultaneamente a utilização de produtos químicos sintéticos (Jiménez et al., 2019).

Vale ressaltar, que o mercado de produtos naturais aplicado ao controle de doenças e pragas na agricultura, tem se destacado, estimando que o comércio mundial de controle biológico em sementes deverá chegar em torno de US\$ 1,7 bilhão em 2025, e de acordo com os autores, levando em consideração o tratamento de semente com substâncias naturais é previsto que o mercado

chegue a US\$ 338 milhões (Cardarelli et al., 2022). Desta forma, realizar pesquisa voltada para estratégias sustentáveis inovadoras, visando a redução de impacto ambiental por meio de produtos naturais para o controle de fungos é uma atividade promissora (Marena et al., 2022).

Nesse contexto, a utilização de extratos da própolis verde surge como uma alternativa, uma vez que os compostos bioativos presentes nessa substância demonstraram atividade antifúngica (Vica et al., 2023). Ainda de acordo com os autores a própolis verde, uma resina natural produzida por abelhas (*Apis mellifera* L.) a partir de brotos e exsudatos vegetais, misturado com suas secreções salivares enzimáticas, ceras e pólen. Além disso os autores destacam que esse composto é de fundamental importância para esses insetos que utilizam na colmeia para tapar fissuras e protegê-la de predadores, além disso, o extrato da própolis também possui atividade antimicrobiana dentre outros.

Este produto sugere um potencial significativo para o controle de patógenos em sementes e, conseqüentemente, para a melhoria da produtividade e desenvolvimento da cultura do milho. Deste modo, focalizar no desenvolvimento de alternativas sustentáveis e eficazes para o controle destes microrganismos em sementes de milho. Assim, dispor de uma alternativa natural e disponibilizar informações científicas para futuras pesquisas e produtores.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de extrato da própolis verde no controle de *Aspergillus* sp. e verificar a sua atuação no tratamento sanitário de sementes de milho (*Zea mays* L.).

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A cultura do milho**

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família botânica das Poaceae, e o tribo Maydae gênero *Zea*, denominado popularmente de milho é uma espécie anual e o seu ciclo varia de 110 a 160 dias, comumente comercializado no mundo todo, essa cultura é caracterizada por possuir caule cilíndrico, ereto e fibroso, dividido em segmentos por gomos e, frequentemente, envolto por uma porção da folha conhecida como bainha (Kwiatkowski; Clemente, 2007).

Atingem aproximadamente dois metros de altura, terminando em inflorescências masculinas denominadas de pendão, nessa estrutura encontram-

se os grãos de pólen. As folhas aparecem em cada nó acima do solo, com média de 90 cm de comprimento e cerca de 7-9 cm de largura na coloração variando entre verde-escura a verde-clara, flexível com uma nervura central branca e lisa. O milho possui as espigas que são inflorescências femininas, que aparecem nas axilas, metade da altura da planta, dando início a fase reprodutiva (Zancanari, 2019). Além disso, cada filamento que emerge da espiga é associado à produção de um grão após a fecundação (Figura 1) (Kwiatkowski; Clemente, 2007).

Figura 1: Ilustração da morfologia de *Zea mays* L.



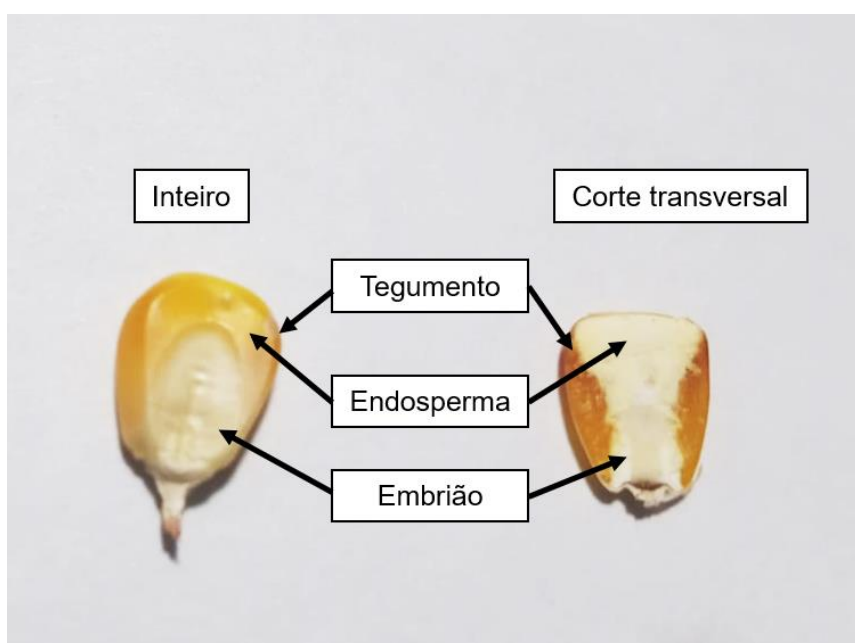
Fonte: acervo pessoal, 2023.

O milho pode chegar a ter cerca de 800 a 1000 sementes em espigas híbridas, onde ficam inseridas pelo pedicelo em um cilindro interno da espiga chamado de sabugo. Essa estrutura que fica as sementes de milho é formada por um núcleo de células, denominada de medulas, com o intuito de armazenar nutrientes para o desenvolvimento da semente (García; Serna, 2019).

Esta cultura apresenta metabolismo C4, ou seja, são vegetais que possui uma estratégia eficiente de regular a fixação de CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) e usá-lo no seu processo fotossintético, o que torna essa planta bem adaptadas às condições de climas mais quente com maior incidência de radiação solar (Westendorff, 2022).

Botanicamente, as sementes de milho são classificadas como uma cariopse, ou seja, o tegumento se encontra fundido à semente, e são caracterizados por ser composto por três órgãos principais: embrião, endosperma e tegumento (Figura 2). Nesse tipo de fruto, a parede do ovário maduro não se separa naturalmente da semente, característica que ocorre em todos os cereais. Durante o processo de formação da semente, elementos condutores no pedicelo transportam produtos da fotossíntese para o seu desenvolvimento (García; Serna, 2019).

Figura 2: Ilustração da estrutura da semente de *Zea mays* L.



Fonte: acervo pessoal, 2023.

O tegumento, desenvolve-se a partir das paredes do ovário constitui cerca de 7% do peso da semente, sendo formado de células ricas em fitoquímicos, que ficam na parte mais externa da semente e sua principal função é protegê-la de estresses abióticos e bióticos (García; Serna, 2019)

O embrião é o primeiro tecido que constitui a semente a partir da qual uma nova planta irá se desenvolver. Os principais constituintes do embrião de uma semente de milho são: eixo embrionário que é composto por plúmula, hipocótilo e radícula, que se tornará o caule, as folhas e as raízes da planta; cotilédones são as protófilos essenciais, que servem para armazenar nutrientes vitais para manter

o embrião, para assim a plântula se desenvolver e manter o crescimento inicial após germinar. Além disso, as substâncias de armazenamento da semente garantem que ocorra os processos metabólicos (Sáenz; Cassab, 2021).

Já o endosperma nada mais é que um tecido de reserva nutricional que tem o objetivo de fornecer energia para o embrião da planta durante a germinação, sendo este formado durante o desenvolvimento da semente e constituindo com as principais substâncias de reserva são lipídios, proteínas, carboidratos como o amido (Oliveira et al., 2022).

Dessa forma, o milho se desenvolve em basicamente dois estádios, sendo o vegetativo (V) e o reprodutivo (R), assim, a fase vegetativa é dividida em aproximadamente sete estádio e a fase reprodutiva em seis (Pinheiro, 2021). Inicia-se com a emergência da semente (VE) quando submetidas a condições adequadas de umidade e temperatura iniciando o processo germinativo que ocorre entre seis a dez dias posteriormente a sementeira, na qual começa-se a desenvolver estruturas contida no eixo embrionário iniciando o crescimento do vegetal (Magalhaes, 2020).

Na fase (V1) tem-se o desenvolvimento de uma folha completa, (V2) o desenvolvimento de duas folhas completas, (V3) o desenvolvimento de três folhas completas (V4) o desenvolvimento de quatro folhas completas, este processo vai do desenvolvimento (Vn) que é o número final de folha desenvolvidas até o pendoamento (VT) onde incide o aparecimento do pendão (Oliveira, 2022).

Em seguida, inicia-se a fase reprodutiva, sendo (R1) a fase em que aparecem as flores, polinização e posterior fecundação, (R2) os açúcares são depositados no endosperma, formando sementes brancas leitosas, (R3) as sementes começam a ficar mais pastosas, (R4) é caracterizada pela parte superior formar uma superfície côncava, (R5) vai se transformar em sementes mais resistentes, e o estágio final é (R6), a semente atinge a maturidade fisiológica (Oliveira, 2022).

## **2.2 Importância Econômica, social e cultural**

Os cereais são alimentos essenciais tanto para alimentação humana, animal, como para o desenvolvimento de matéria-prima para uma grande quantidade de produtos industriais e biocombustíveis, como alternativa à produção de etanol. Estima-se que a produção de etanol no Brasil chegue a 4

bilhões de litros, sendo produzido unicamente nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Paraná (CONAB, 2023).

Globalmente, as três maiores culturas de cereais são milho, arroz e trigo, sendo, o milho o cereal mais importante em termos de produção, ultrapassando o arroz e o trigo e a segunda cultura de maior importância no país, ficando atrás apenas da cultura da soja (SENAR, 2016). O milho se destaca, pois, se adapta bem a distintos ambientes, possui um alto rendimento por meio do desenvolvimento de genótipos geneticamente modificados e tecnologia empregada no setor (García; Serna, 2019).

As três maiores potências mundiais na produção de milho, são EUA- Estados Unidos da América, China e Brasil. De acordo com os dados da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2023) a produção brasileira está estimada em aproximadamente 125 milhões de toneladas, com um crescimento acentuado, cerca de 11% em comparação a safra de 2021/2022. No Brasil, as regiões que mais produzem milho, são: Centro-Oeste com cerca de 69 mil toneladas, seguida do Sul com 26 mil toneladas, Sudeste com 12 mil toneladas, Nordeste com 11 mil toneladas e Norte com 5 mil toneladas (CONAB, 2023).

No Nordeste brasileiro o milho é o grão de maior destaque por ser o mais produzido (Marengo et al., 2022), os estados que mais se destacam na produção são: Bahia com 3,9 mil toneladas, Maranhão com 3 mil toneladas, Piauí com 2,6 mil toneladas (CONAB, 2023). Vale destacar que além da importância econômica, ressalta-se aspecto social e cultural do milho, visto que a maioria dos produtores não possui tecnologia avançada, áreas extensas e vive dessa produção, assim, mais que a metade dos produtores de milho o consome na própria propriedade (Cruz et al., 2011).

Ademais esta cultura é uma fonte de energia para muitas pessoas que vivem em regiões do Nordeste, consumo per capita de derivados de milho é muito maior do que em outras regiões do país, no semiárido por exemplo esse vegetal vem sendo um ingrediente muito importante na culinária por exemplo o cuscuz (Fagundes et al., 2020).



### **2.3 Qualidade fisiológica da semente de *Zea mays* L.**

Para se obter uma boa produtividade para uma determinada cultura é essencial a utilização de sementes de boa qualidade, na qual, por meio desta, permite que o produtor obtenha uma planta geneticamente superior com boa adaptabilidade a diferentes regiões e melhores resultados de produção (França-Neto et al., 2016). Além disso, obtém-se um resultado primário melhor, pois, o cultivo se estabelece de forma saudável, tem-se menos gastos e maior eficiência com o uso de produtos fitossanitários e fertilizantes (Nunes, 2011).

Diante da tamanha importância do milho para o país, e tendo em vista que a produção do milho se dá prioritariamente por meio da utilização da semente, é necessário que o agricultor tenha disponível sementes fisiologicamente saudáveis para o estabelecimento da cultura, desta forma é fundamental a avaliação desta qualidade (Monteiro, et al., 2020)

A qualidade da semente está intrinsecamente relacionada com características genéticas, físicas, fisiológicas e sanitárias (Marcos-Filho, 2015). De acordo com a Regras para Análise de Sementes – RAS, o método de avaliar a qualidade fisiológica de uma semente e alcançar um potencial produtivo máximo é por meio do teste de germinação e da primeira contagem para o vigor. Ainda de acordo com a RAS, a germinação é definida como a capacidade da semente de originar uma plântula normal sob circunstâncias favoráveis, controladas e ideais em laboratório, permitindo que a semente desponte o seu potencial máximo de germinação (Brasil, 2009).

Já o teste de vigor está relacionado com o somatório de várias características como: o potencial germinativo, emergir e gerar plântulas normais de forma rápida, em condições ambientais adversas (Marcos-Filho, 2015). Teste como os mencionados podem ser considerados diretos, que são os que simulam as variações que ocorrem no campo, como por exemplo, as condições ambientais e os indiretos aqueles que tem o objetivo de fazer uma avaliação a respeito de aspectos físico, biológico e fisiológico de sementes (Sena; Alves; Medeiros, 2015).

## 2.4 Vulnerabilidade do milho a doenças fúngicas

A capacidade fisiológica das sementes em resultar em uma plântula saudável, também está relacionado com sua qualidade sanitária, quando a semente se encontra infestada por algum fitopatógeno ou pragas, que podem causar injúrias, resultando na não germinação pela deterioração ou em plântulas anormais (Dias et al., 2021).

No que se refere à semente de milho, os fitopatógenos normalmente localizam-se na sua camada externa, que possuem celulose, hemicelulose e lignina (Scaglioni; Furlong, 2020). Os autores supracitados, ainda ressaltam que o principal agente fitopatogênico que causa prejuízo às sementes, incluindo o milho são os fungos, que se estabelecem em busca de nutrientes, assim ao utilizar enzimas exocelulares causam injúrias, que diminui a qualidade fisiológica da semente. Além disso, esses organismos se encontram e adaptam a diversas condições bióticas e abióticas.

Na agricultura os fungos podem causar muitos problemas. Mundialmente são responsáveis por aproximadamente 80% das perdas na produção de diferentes culturas (Ketzer et al., 2020). Se um grão de milho sofrer danos, seu valor comercial diminui. Se mais de 6% das sementes estiverem danificadas, elas não são consideradas saudáveis ou de boa qualidade. Nesse caso, o lote inteiro é descartado, o que significa que o produtor perde dinheiro, tempo e espaço (Prestes et al., 2019).

É válido ressaltar que o milho está sujeito ao ataque de fungos em toda fase do seu desenvolvimento e na pós-colheita/armazenamento das sementes. Assim, destaca-se como principais agentes fúngicos que afetam diretamente as propriedades fisiológicas da semente de milho são dos gêneros: *Fusarium*, *Penicillium* e *Aspergillus* (Scaglioni, 2020). E as espécies que estão principalmente envolvidas em causar podridões e problemas de pós colheita na semente são: *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium proliferatum*, *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* (Prestes et al., 2019).

O gênero *Aspergillus* faz parte da família Trichocomaceae, ordem Eurotiales, subclasse Eurotiomycetidae, classe Eurotiomycetes, filo Ascomycota, reproduzem assexuadamente, por meio de filamentos responsável pela produção

e esporos, que são células pequenas que podem ser dispersas no ambiente quando encontra condições favoráveis para a sua germinação (Silva et al., 2015).

Dessa forma, o *Aspergillus* possui conidióforo que são estrutura que se projeta para fora do corpo do fungo e produzem os esporos, simples, não possuem separação entre as células, denominado de aseptado e termina em uma vesícula, estrutura responsável principalmente no armazenamento e transporte dentro da célula fúngicas (Silva et al., 2015). Os microrganismos pertencentes a este grupo podem adaptar-se e crescer em ambientes com altas temperaturas e baixa disponibilidade hídrica, tornando-o bem adaptados ao crescimento em sementes no armazenamento (Munkvold et al., 2019).

Além disso, este gênero possui cerca de 260 espécies identificadas, e suas colônias são caracterizadas por apresentarem, diferente coloração, podendo ser encontradas nas cores: verde, amarelo, cinza, marrom, preto e branco. Esse fungo é de grande importância econômica, pois, este grupo são responsáveis por causar diversos problemas em culturas agrícolas, em especial *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* (Monteiro, 2012). Entretanto, os problemas causados por estes microrganismos, também estão relacionados com a produção de metabólicos tóxicos (Scaglioni, 2020).

Essas substâncias tóxicas são denominadas de micotoxinas, são resultado do metabolismo secundário de algumas espécies fúngicas, aos fungos que causam prejuízos na semente de milho tem-se *Aspergillus* spp. que produzem a aflatoxinas e ocratoxinas (Embrapa, 2006).

Os prejuízos causados por essas substâncias incluem, perda no rendimento da produção, redução do valor da colheita do milho, perdas na produtividade animal devido a problemas na saúde, além de problemas à saúde humana (Munkvold et al., 2019).

É importante destacar que os sintomas de deterioração de grãos, frequentemente são ocasionados devido a infestação por *A. flavus*. Os esporos de *A. flavus* denominado de conídios conseguem adentrar o grão de milho através do pedicelo ou de uma ferida existente e começam sua germinação internamente. Após um período de 3 a 7 dias, as hifas deste fungo iniciam seu desenvolvimento no interior do grão, e o fungo subsequente produz conidióforos que sustentam e formam os esporos, liberando conídios que contaminam outros grãos de milho (Ventura et al., 2022).

Os autores ainda citam que este fungo se desenvolve de forma ideal dentro da faixa de temperatura que varia entre 10 e 55 °C e a produção de aflatoxinas se inicia quando o fungo dá início a formação da estrutura denominada de conidióforos, mas também pode ocorrer em resposta a estresses diversos, como competição com outros organismos, carência de nutrientes e água, ou mesmo a presença de fungicidas químicos. Além disso, seu crescimento é consideravelmente rápido, e as colônias exibem uma textura característica, que pode ser descrita como felpuda ou pulverulenta (Barwant; Lavhate, 2020).

## **2.5 O uso de produtos naturais**

Historicamente, o método comumente utilizado para combater os fitopatógeno é o químico, assim o combate deste microrganismo é por meio de fungicidas sintéticos (Jiménez et al., 2019). Estes antifúngicos na sua maioria fazem parte do grupo azólico, sendo os principais representantes, popularmente utilizado na agricultura e registado para essa finalidade, os triazóis e imidazóis, ambos apresentam capacidade de eliminar uma ampla variedade de espécies fúngicas, o primeiro por meio da inibição da biossíntese de esteróis na membrana plasmática do fungo, e o segundo por meio da inibição da divisão celular (Korres et al., 2011).

Dessa forma, é evidente que se tem produtos químicos que controlam doenças fúngicas e por consequência aumenta a produtividade. Entretanto vale ressaltar que a utilização imprópria e sem controle destes produtos pode gerar problemas para a saúde humana, na agricultura, e ao ambiente (Rodrigues; Limeira, 2023). Além disso, estudos apontam que a utilização de fungicida para o tratamento sanitário de sementes submetidas a armazenagem, como milho e soja, afeta negativamente a germinação e o vigor (Alves, 2022).

Ademais, estes compostos denotam como desvantagem, a presença de resíduos tóxicos após o uso, o desenvolvimento de resistência fúngica, risco a saúde, como intoxicação e infertilidade vinculado ao manuseio desses produtos, a não biodegradabilidade, ou seja, persistência no ambiente por um longo período o que gera impactos ambientais e o custo relacionado ao uso destes produtos (Jiménez et al., 2019). Vale destacar, que no período de 2016/2017 abrangendo primeira e segunda safra, para a cultura do milho o custo com a compra de fungicida foi de R\$ 1,28 bilhão (Barros et al., 2019).

Diante do que foi exposto, têm-se aumentado a procura por métodos alternativos para o controle de fitopatógeno, principalmente por proporcionarem menos impacto ao ambiente e não provocam a maioria dos desafios enfrentados com os agrotóxicos (Dias et al., 2021).

Dessa forma, com o objetivo de controlar o crescimento fúngico e prevenir a formação de micotoxinas é possível utilizar ácidos orgânicos, óleos essenciais, derivados de origem animal (quitosana e própolis), ervas dentre outros (Badiale et al., 2020). Assim, pesquisas com o uso de fontes naturais sozinhas ou com outras substâncias, vêm sendo uma nova possibilidade para os produtores não se limite ao uso do agrotóxico (Nogueira, 2020).

O uso de extratos ou óleo essencial obtidos de florestas nativas brasileiras, tem demonstrado sua potencialidade no controle fitossanitário, isso inclui a utilização de extrato de própolis (Vica et al., 2023). Nesse sentido, pesquisa já demonstraram o potencial do extrato de própolis no controle de ferrugem na cultura do café, como preventivo no pepino para evitar contaminação com Oídio e como controle natural de podridão da coroa da banana (*Colletotrichum musae*) (SILVA-CASTRO et al, 2018; PIVA, 2013; Dudoit et al., 2020).

O extrato também foi utilizado para teste *in vitro* em tomate e figo proporcionaram o controle de *A. flavus* e a redução de aflatoxinas (Segura et al., 2021; Aparicio et al., 2021), além de utilização como inibidor da esporulação e germinação de ferrugem, mancha foliar e antracnose na cultura de videira (Marini et al., 2012). Bem como, sua atuação no controle da antracnose da cultura do feijão (*Colletotrichum lindemuthianum*) (Pereira; Maia; Paula, 2014).

A própolis é caracterizada por ser um produto resinoso natural, produzido pelas abelhas (*Apis mellifera* L.), que coletam resina de diferentes vegetais e mistura com suas secreções salivares enzimáticas, ceras e pólen formando a própolis, que é basicamente utilizado para tapar fissuras na colmeia, controlar temperatura, impedir a entrada de outros animais, mumificar pequenos animais, insetos, dentre outros (Marcucci et al., 2021).

Esse composto possui várias propriedades, incluindo atividade antimicrobiana, que afetam insetos e microrganismos que causam problemas às abelhas. Quando a colmeia é revestida com esse complexo, ele funciona como uma defesa natural, o que explica a origem do nome "própolis" - definido como a

"defesa da colmeia" (Marcucci et al., 2021). Apesar de ser um produto primeiramente de origem vegetal, devido à forte participação das abelhas na sua elaboração, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a própolis é considerada um produto de origem animal (BRASIL, 2001).

O sucesso da própolis está relacionado com os compostos que o constitui, sendo identificado e classificado aproximadamente 500 compostos, na qual, cerca de 70% é composto por resina e bálsamo, por volta de 30% consiste em cera, na composição da própolis verde tem-se adicionalmente cerca de 10% de óleo essenciais, além disso, ela possui em torno de 10% de pólen e 5% de outros elementos, como açúcares, minerais e vitaminas, alguns dos compostos que se destaca são ácido cinâmico, flavonoides, ácidos fenólicos e seus ésteres, isso torna a própolis um produto de grande interesse (Vica et al., 2023)

Evidencia-se que a ocorrência deste composto químico está intrinsecamente relacionada às variações do tipo, origem geográfica, fonte vegetal e época do ano Costa et al., 2018). Assim, salienta-se que a própolis verde brasileira é caracterizada por possuir uma coloração verde, devido as abelhas procurarem resina na cultura *Baccharis dracunculifolia*, denominada popularmente como "alecrim-do-campo", tornando esta a principal responsável por sua cor, e pela fonte dos ácidos fenólicos, ácidos fenólicos prenilados e flavonoides (Costa et al., 2018; Oliveira et al., 2014; Basto et al., 2015).

De acordo com o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas-SEBRAE (2014), o Brasil ocupava o terceiro lugar relacionado a produção de própolis, evidenciando o Japão como principal comprador deste produto, representando aproximadamente 90% da própolis *in natura* consumida neste país. Salienta-se que o estado de Minas Gerais é o que detém a maior produção, sendo o responsável pela maior parte da fabricação de própolis verde, além disso os mais diferentes tipos de própolis são produzidos no Brasil (Vidal, 2021).

Já no Nordeste brasileiro o mercado de própolis está despontando e intensificado, destacando o extrato que é originado da árvore popularmente conhecida como jurema-preta, este produto está sendo potencialmente empregada para a fabricação de medicamentos, por possuir composto com atividade antioxidante e microbiana (Cunha, 2018). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística -IBGE (2017) na região do Nordeste

encontra-se por volta de 24 mil estabelecimentos que realizam atividades com a apicultura e cerca de 700 mil colmeias registradas e dentre os estados os que mais se destacam são Bahia, Ceará e Piauí (IBGE, 2017).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Local de elaboração do experimento

O estudo foi conduzido no Núcleo de Estudo dos Insetos (INSECTA) no Laboratório de Microbiologia Agrícola e no Laboratório de Sementes, localizados no campus de Cruz das Almas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). O estudo foi dividido em três etapas: i) a preparação do extrato de própolis ii) o experimento *in vitro*, e iii) o experimento *in vivo*.

#### 3.2 Extrato de própolis

Para preparar o extrato de própolis, inicialmente foi adquirida a própolis verde bruta de Minas Gerais. Primeiramente, foi feita a trituração da própolis bruta e adicionamos 1g do material triturado em tubos de centrifugação. Em seguida, realizou-se a diluição misturando a essa quantidade com 12,5 mL de álcool diluído em água a 70%, após esse material foi agitado no vortex. Após a mistura descansar por 24 horas e, depois desse período, o material foi colocado em um banho ultrassônico por 60 minutos, seguido de uma centrifugação de 5 minutos. Depois, deixamos o material descansar por mais 1 hora. Em seguida, foi feita a filtragem da solução e a transferência para placas de Petri. Após mais 24 horas de repouso numa capela de exaustão, colocamos o material num dessecador até que estivesse completamente seco (ver Figura 3). (SANTOS; CARVALHO, 2021).

Figura 3: Ilustração das etapas de preparação do extrato de própolis.



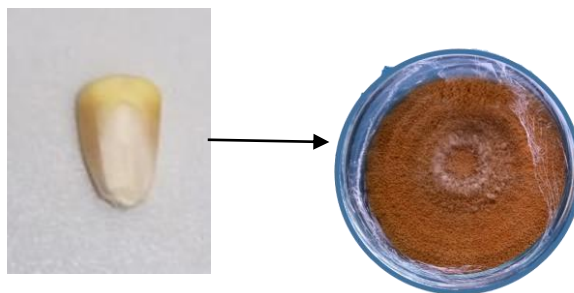
### 3.3 Avaliação do extrato da própolis bruta

Foi realizado uma análise cromatográfica, na qual consiste em uma ferramenta importante na caracterização da composição química, uma vez que esse produto natural pode conter uma ampla variedade de compostos e varia dependendo da região geográfica, das fontes de coleta das abelhas e das condições climáticas. Assim, o extrato de própolis foi submetido à análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (marca SHIMADZU®, modelo GCMS QP 2010). Os compostos foram identificados por meio de bibliotecas de espectro-padrão de compostos orgânicos, como NIST107 e Wiley 229.

### 3.4 Amostra de fungo isolada

O isolado do fungo *Aspergillus* sp. foi obtido do Laboratório de Análise de Sementes da UFRB, devido suas características (coloração da colônia, esporos, comportamento) estima-se ser o *Aspergillus flavus*, entretanto até o presente momento o fungo está em processo de identificação molecular) após o isolamento em sementes de milho (Figura 4). O fungo foi replicado para placas de Petri com meio de cultura Batata Dextrose Ágar e incubado na temperatura de  $23\pm 2^\circ$  C.

Figura 4: Ilustração do *Aspergillus* sp. coletado da semente de milho.



Fonte: Acervo pessoal, 2023.

### 3.5 Experimento In vitro

O meio de cultura utilizado foi o Ágar Sabouroud acrescido da própolis nas concentrações definidas, para avaliação do crescimento micelial do *Aspergillus* sp. O tratamento controle positivo foi constituído pelo meio de cultura sem a própolis e o crescimento micelial do *Aspergillus* sp. foi medido com uma régua diariamente, até a colônia do tratamento controle atingir as bordas da placa de



Petri. Para determinar as concentrações que seria utilizado, foram feitos testes preliminares utilizando a mesma metodologia, com as concentrações de 0,2%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2% e 4% de extrato de própolis verde, determinou-se as quatro concentrações (0,5%, 1%, 2% e 4%) para o extrato, e o teste com o álcool 10%.

O meio de cultura Ágar Sabouroud contendo os extratos nas diferentes concentrações foi vertido em placas de Petri e após o meio solidificar, no centro de cada placa foram transferidos, com uma micropipeta, 20 µL da suspensão de ágar água com esporos de *Aspergillus* sp., na concentração de  $10^6$  esporos mL<sup>-1</sup>.

Para facilitar a medição do crescimento micelial utilizou-se a preparação de Ágar semissólido, pois, os esporos que estavam nessa solução não se espalharam pela placa, resultando em uma única colônia. Além disso, utilizando este método todos tratamentos e repetições receberam a mesma quantidade de esporos no centro da placa de Petri.

Para a preparação de Ágar semissólido, em 250 mL de água deionizada foram adicionados 0,38 g de ágar, e essa solução foi aquecida para dissolver o ágar e em seguida transferida para tubos de centrifuga com tampa de rosca para esterilização em autoclave a 120°C por 20 min. Para preparo da suspensão de esporos em ágar-água semissólido, em microtubo de centrifuga (do tipo Eppendorf) esterilizado foram colocados 13 mL do ágar-água semissólido e, com uma alça de platina esterilizada por flambagem, foi feita a raspagem de uma parte da colônia do *Aspergillus* sp. e os esporos aderidos a alça de platina foram transferidos para o tubo com o ágar água semissólido e o tubo homogeneizado no agitador tipo vórtex.

Para a contagem dos esporos, 0,1 mL dessa suspensão de esporos foi transferido para um tubo contendo 0,9 mL de solução salina (0,94% NaCl) esterilizada, sendo essa suspensão diluída e homogeneizada em agitador tipo vórtex e uma alíquota foi transferida para uma câmara de Neubauer para a contagem de esporos em microscópio de Luz com aumento de 400 x. A equação para a quantificação dos esporos levou em consideração a diluição  $10^{-1}$ .

O número de esporos por mL da solução de ágar água semissólido foi determinada com a seguinte equação:  $Q = \bar{x} * 2,5 * 10^5 * D$ , (em que Q é a quantidade de esporos,  $\bar{x}$  é a média da contagem dos cinco quadrantes e D o valor da diluição). Para determinar a quantidade de esporos no eppendorf contendo Ágar semissólido e os esporos de *Aspergillus* sp. foi utilizado a formula

para a diluição volumétrica ( $C1 \times V1 = C2 \times V2$ , em que: C1 = a quantidade de esporos da diluição, V1 = volume da diluição, C2 = a quantidade de esporos Ágar semissólido contendo o *Aspergillus* sp. da V2 = volume do eppendorf contendo Ágar semissólido contendo o *Aspergillus* sp.).

### 3.6 Avaliação in vitro

As medições do diâmetro das colônias foram realizadas diariamente por um período de dez dias, com régua em dois sentidos, de forma ortogonal. Dessa forma, o índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) foi dimensionado pela fórmula:  $IVCM = \sum (D - D_a) / N$ . Em que: IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial;  $\sum$ = somatório; D= diâmetro médio atual;  $D_a$ = diâmetro médio do dia anterior e N= número de dias após a deposição do micélio, e a porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) representado pela fórmula  $PIC = \frac{\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento} \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$ .

### 3.7 Experimento In vivo

As sementes utilizadas neste experimento foram adquiridas na feira livre por intermédio de agricultores no município de Cruz das Almas, Bahia. Primeiramente, foi separada 20 sementes em placas de petri contendo meio de cultura Ágar Saburoud, para confirmar se as sementes estavam contaminadas com o patógeno *Aspergillus* sp.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo realizado dois experimentos. O primeiro experimento consistiu em seis tratamentos o controle positivo (água destilada), as concentrações dos extratos de própolis, 1%, 2%, 4 %, 6% e álcool a 10% e cinco repetições de lotes de 25 sementes. No segundo experimento foram utilizados os mesmos tratamentos e a quantidade de repetições foram iguais, entretanto as sementes foram emergidas em uma diluição de  $1 \times 10^{-6}$  de esporos de *Aspergillus* sp. por 5 minutos, em seguida foram alocadas em uma bandeja por 1 hora para secagem. Buscando analisar o comportamento do extrato de própolis em sementes de milho contaminadas com *Aspergillus* sp.,

Em ambos os testes, realizou-se as recomendações das Regras para Análise de Sementes – RAS, onde as sementes foram primeiramente

higienizadas com hipoclorito de sódio (2%), por 2 minutos, em seguida com as dosagens de própolis, as mesmas, foram homogeneizadas por 5 minutos em extratos de própolis nas respectivas concentrações, posteriormente retirado o excesso da solução com papel toalha e em seguida colocadas em placa de gerbox contendo uma folha germitest, umedecidos com água destilada (BRASIL, 2009). Foram incubadas em BOD com a temperatura de  $26 \pm 1$  °C por um período de sete dias. Assim, foram avaliados a incidência de *Aspergillus* sp. nas sementes tratadas, germinação (G%) plântulas normais (PN%), anormais (PA) e sementes não germinadas (S). Além disso, foi avaliado os fungos que estavam presentes na semente de milho, antes e depois dos tratamentos.

### **3.8 Estatística**

Foi quantificado sementes germinadas, plântulas normais, anormais e sementes não germinadas, posteriormente convertido em porcentagem. A análises estatísticas foram: análise de variância (ANOVA), e análise de regressão, por intermédio do *software* estatístico SISVAR.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Análise cromatográfica gasosa acoplada a espectroscopia de massa (GG-MS)**

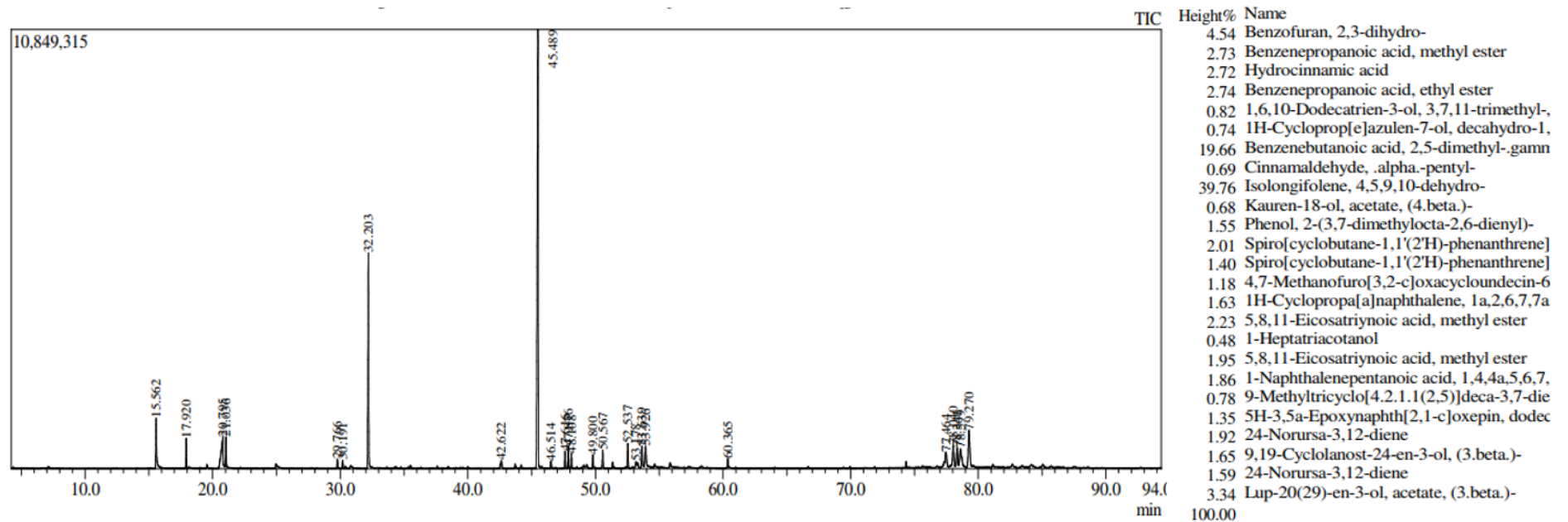
Após realização da foram identificadas 22 substâncias da classe dos compostos orgânicos conforme descrito na a tabela 1.

Tabela 1- Compostos presente no extrato de própolis da análise cromatográfica.

<b>Fórmula</b>	<b>Nome</b>	<b>Classe</b>
C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	Benzofurano, 2,3-dihidro-	Benzofuranos
C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Benzenepropanoic acid, methy ester	Ésteres
C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	Benzenepropanoic acid, ethyl ester	Ésteres
C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	5,8,11-Eicosatriynoic acid, methyl ester	Ésteres
C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	Hydrocinnamic acid	Carboxila
C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-	Álcoois
C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-t	Terpeno
C <sub>37</sub> H <sub>76</sub> O	1-Heptatriacotanol	Álcoois
C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol, (3. Beta.)	Esterol
C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	Benzenebutanoic acid, 2,5-dimethyl-.gamma	Ácidos carboxílicos
C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1-Naphthalenepentanoic acid, 1,4,4a,5,6,7	Ácidos carboxílicos.
C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>1</sub>	Cinnamaldehyde, .alpha.-penty	Aldeídos
C <sub>15</sub> H <sub>20</sub>	Isolongifolene, 4,5,9,10-dehydro	Terpeno
C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Kauren-18-ol, acetate, (4. Beta.)	Terpeno
C <sub>29</sub> H <sub>46</sub>	24-Norursa-3,12-diene	Terpeno
C <sub>32</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	Lup-20(29)-en-3-ol, acetate, (3.beta)	Terpeno
C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O	Phenol, 2-(3,7-dimethylocta-2,6-dienyl)	Fenol
C <sub>18</sub> H <sub>24</sub>	Spiro[cyclobutane-1,1'(2'H)-phenanthrene	Hidrocarbonetos aromáticos
C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	9-Methyltricyclo[4.2.1.1(2,5)]deca-3,7-diene	Hidrocarbonetos aromáticos
C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	4,7-Methanofuro[3,2-c]oxacycloundecin-6	Éter
C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	5H-3,5a-Epoxynaphth[2,1-c]oxepin, dodec	Éter
C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	1H-Cyclopropa[a]naphthalene 1a,2,6,7,7a,	Ciclopropano

Conforme a Figura 6 é possível observar que a maior extremidade apresentada no gráfico indica que o componente da classe do terpeno, o qual estão presentes em uma proporção significativa em relação aos outros componentes da amostra, correspondendo a 39,76 % dos compostos voláteis identificados. Resultado semelhante ao encontrado por Turk, Sahinler, Dinler (2022) e Jihene et al. (2018), sendo este composto é um dos principais encontrados na própolis.

Figura 6: Perfil cromatográfico do extrato de própolis-verde



Fonte: Central Analítico de Instrumentação da Universidade de São Paulo, 202

O composto Terpeno faz parte de uma classe diversificada de substâncias orgânicas oriunda especialmente do metabolismo secundário de algumas plantas, sendo cruciais na defesa do vegetal contra patógenos, predadores e outros competidores naturais, bem como, pode ser identificada em alguns animais (BARROS et al., 2023).

Ademais, tem-se intensificado as pesquisas sobre os terpenóides devido a amplas aplicações, tanto em pesquisa sobre fitoterápicos com o intuito de adquirir novos antimicrobianos, como também no setor agropecuária, alimento, cosmético e em várias outras áreas (Flores; Beck; Silva, 2016).

Vale ressaltar, que este composto tem um potencial para inibir o crescimento fúngico e segundo Turk, Sahinler e Dinler (2022) e Jihene et al. (2018) esta atividade está relacionado à capacidade dessa substância penetrar a membranas celular do microrganismo e interferir em seus processos metabólicos, ou chegando até romper a membrana celular dos fungos. Além disso, trabalhos têm apontado, que os efeitos do extrato de própolis rico em terpenos com alta atividade antifúngica são eficazes na inibição de microrganismos causadores de doenças de pele (Cerqueira; Cunha; Almeida, 2022).

O segundo composto que mais se destacou foi o ácido carboxílico, esse composto orgânico é encontrado em várias fontes naturais, incluindo frutas, vegetais e laticínios. Eles contribuem para o sabor e aroma de muitos alimentos, caracteriza-se por apresentar propriedades ácidas e envolver-se em diversos processos químicos e biológicos. Este ácido pode sofrer várias reações como por exemplo a esterificação, oxidação e descarboxilação, também auxilia na preservação da integridade celular, possui propriedades antioxidantes, contribuindo para a atividade biológica geral da própolis (Calderón-Oliver; Ponce-Alquicira, 2018).

Ainda vale destacar que o extrato de própolis rico em ácido carboxílico tem a capacidade de ser utilizado como um agente terapêutico (El-khatib et al., 2001). Outra atividade importante deste composto é a antimicrobiana na qual pode inibir a RNA-polimerase bacteriano e ainda causar danos à membrana ou parede celular do microrganismo (Lustosa et al., 2008).

Além dos compostos apresentados vale destacar o benzofurano, que tem inúmeras aplicações devido sua atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anticâncer, anti-histamínico dentre e outros (Ugale et al., 2017). Evidencia-se que

de acordo com Lacerda, Tiveron e Alencar (2011) o composto principal da própolis verde encontrada em Minas Gerais no Brasil é o benzofurano, diferentemente das própolis originária de outras regiões onde têm os flavonoides como composto principal e ainda destaca que a própolis verde brasileira é rica em terpenos, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho, onde este componente também ocorre de forma acentuada.

Porém, é importante entender que o efeito da atividade antifúngica do extrato de própolis pode não está relacionado unicamente a apenas um composto, mas sim, a possível sinergia entre dois ou mais componentes químicos, que podem agir juntos para produzir um melhor resultado antimicrobiano, antiviral ou antioxidante, por meio da soma dos seus efeitos individuais. Pesquisas demonstram que a sinergia entre os diferentes componentes da própolis pode ser uma das razões para sua eficácia como agente antimicrobiano, cada componente atua diferentemente na célula microbiana, tornando difícil os microrganismos desenvolverem resistência (Grecka, Szweda, 2021). Vale destacar, que os estudos realizados com própolis sul-africana demonstraram que esse efeito funciona, para alcançar um controle antimicrobiano ideal (Kharsany et al., 2019).

#### **4.2 In vitro**

Por meio da análise estatística foi possível constatar que o crescimento micelial do fungo *Aspergillus* sp. com diferentes concentrações de extrato de própolis, demonstraram diferença significativa a 5% entre os tratamentos e observa-se que a menor crescimento micelial a medida que aumenta a concentração de extrato de própolis. Ressalta-se ainda que a testemunha (álcool a 10%) acompanhou a placa que continha apenas o fungo e meio de cultura, demonstrando que o mesmo não tem influência na inibição do crescimento de *Aspergillus* sp. (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento micelial (cm) de *Aspergillus* sp. com extrato de própolis submetidos a diferentes concentrações

Avaliações (diárias (cm))											
C%	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º	Média
CP	1,6 b	2,4 b	3,5 a b	4,9 b	5,5 c	6,4 c	6,9 c	7,8 c	8,7 d	9,0 c	5,7 d
A10%	1,6 b	2,7 b	3,6 b	4,8 b	5,7 c	6,7 c	7,7 c	8,3 c	8,8 d	9,0c	5,9 d
0,5	1,3 b	2,0 a b	2,9 a b	4,0 b	4,7 b c	5,7 b c	6,4 c	6,5 b	7,7 d	8,3 c	4,9 c
1	1,0 b	1,6 a b	2,5 a	2,9 b	3,8 a b	4,8 b	5,4 b	6,1 b	6,2 c	6,7 b	4,1 b
2	1,7 b	1,5 a b	2,1 a	2,6 a	3,3 a	3,7 a	4,1 a	4,3 a	4,9 b	4,9 a	3,3 a
4	0,0 a	1,3 a	2,1 a	2,4 a	3,1 a	3,5 a	4,4 a	4,5 a	4,7 a	4,6 a	3,1 a

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5%. C (%) = Concentração dos estratos de própolis. CP = Controle Positivo. A10% = Álcool 10%

O resultado foi semelhante ao encontrado por Souza et al. (2017 a) em testes com doses de extrato de própolis para o controle de *Aspergillus* sp. em sementes de pepino, que também observaram que o extrato de própolis permite diminuição do crescimento micelial à medida que aumentava das doses de extrato.

É possível observar que no primeiro dia de avaliação, ou seja, após 24 horas do fungo inoculado, a concentração 4% de extrato de própolis apresentou melhor resultado, pois, nesta concentração ainda não tinha ocorrido o crescimento do fungo tendo uma porcentagem de inibição de 100%, diferentemente das demais, demonstrando que a melhor influência em ter potencial de inibição foi a maior concentração (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de inibição do Crescimento micelial de *Aspergillus* sp.

Porcentagem de inibição de crescimento micelial (%)											
C (%)	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º	Média
0,5	14,7b	15,1b	17,7a	17,2b	15,2b	12,3b	10,3b	16,5b	11,8 b	8,1 b	13,8 d
1	35,4b	31,0ab	30,1a	40,4ab	31,3ab	24,4ab	21,3ab	22,6ab	28,7 ab	25,9ab	29,2 c
2	34,7b	38,8ab	42,0a	47,4a	40,9a	41,6a	40,9a	45,1b	43,4 a	44,9a	42,0 b
4	100,0a	43,7b	41,7a	50,8a	43,9a	45,1a	46,9a	42,8b	47,8 a	48,1a	50,1 a

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5%. C (%) = Concentração dos estratos de própolis.

Conforme a tabela 3, observa-se que a porcentagem de inibição do crescimento micelial teve diferença estatística. Para 0,5% de concentração, demonstrou uma baixa atividade antifúngica, sendo a concentrações relativamente mais baixa e teve a menor porcentagem de inibição. Com o



aumento da concentração para 1%, a inibição do crescimento micelial do *Aspergillus* sp. aumentou para 29,2%. Este aumento na atividade antifúngica sugere uma relação positiva entre a concentração do extrato de própolis e a inibição do diâmetro do fungo.

A concentração de 2% do extrato de própolis proporcionou uma inibição do crescimento micelial do *Aspergillus* sp. em 41,98%, reforçando a eficácia crescente do extrato de própolis em concentrações mais elevadas, indicando um potencial significativo para seu uso como agente antifúngico. Já na concentração mais alta testada, 4% de extrato, resultou em uma notável inibição do crescimento micelial do fungo *Aspergillus* sp., alcançando 50,1% demonstrando um efeito fungistático. Isso destaca a eficácia máxima obtida neste estudo, sugerindo que concentrações mais elevadas de extrato de própolis são eficazes na inibição do crescimento do *Aspergillus* sp.

Visando analisar a taxa de crescimento micelial, calcula-se o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), os resultados demonstraram variações notáveis em relação às diferentes concentrações testadas. Na ausência do extrato de própolis, observou-se que IVCM médio foi de 1,638 cm.dia<sup>-1</sup>, este valor serviu como base de comparação para avaliar o impacto das concentrações de extrato de própolis e álcool. Já o Álcool 10% apresentou IVCM médio 1,348 cm.dia<sup>-1</sup>, resultado semelhante ao 0%, demonstrando que o álcool a 10% não interfere no crescimento do *Aspergillus* sp.

Tabela 4. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Aspergillus* sp.

<b>Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) (cm.dia<sup>-1</sup>)</b>	
<b>Concentrações (%)</b>	<b>Avaliação dos dez dias</b>
<b>0</b>	1,64 e
<b>A 10%</b>	1,35 c
<b>0,5</b>	1,42 d
<b>1</b>	1,35 c
<b>2</b>	0,75 b
<b>4</b>	0,67 a

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5%. A10% = Álcool 10%

Na concentração de 0,5% de extrato a velocidade que o fungo cresceu houve uma leve redução e estatisticamente foi possível obter uma diferença estatística em comparação com o controle positivo. No 1% de extrato de própolis

a taxa de crescimento foi semelhante ao álcool a 10% , já a concentração de 2% e 4 % de extrato de própolis, apesar de deferirem significativamente é possível observar que em ambos houve as maiores redução no índice de velocidade de crescimento micelial respectivamente. Esse dado demonstra o potencial do extrato de própolis quando utilizado em concentrações mais altas.

Pesquisa realizada por Loebler et al. (2022) em ensaios *in vitro* mostraram que os extratos de própolis foram capazes de inibir em até 90% o crescimento micelial do fungo *Stemphylium vesicarium* que causa injurias na fruta popularmente conhecida como pera. Além disso o mesmo obteve um resultado semelhante aos resultados dessa pesquisa, onde os valores obtidos no IVCM demonstraram que os extratos de própolis têm um forte efeito na redução da velocidade do crescimento micelial de *S. vesicarium*, com concentrações mais elevadas de própolis.

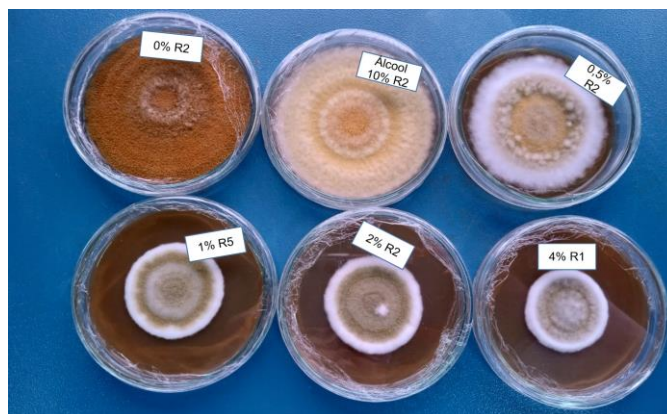
A eficácia do extrato de própolis em experimento *in vitro*, visando o controle do crescimento micelial do fungo estudado, pode ser atribuída à presença de compostos bioativos na própolis. Sabe-se que estes compostos possuem atividade antimicrobianas para diferentes mecanismos fitopatogenos (Carvalho; Sodré, 2021). Levando em consideração que o extrato utilizado nesse estudo, contém substâncias com atividade antifúngicas como os terpenos, que possui atividade antimicrobiana e pode ter interferido para se obter este resultado.

Pesquisa realizada por Mahmoodzadeh et al. (2020), demonstraram que o extrato da própolis não apenas auxilia no controle, mas também tem efeito inibitório na produção de aflotoxinas, pois, observaram que os fungos *Aspergillus* spp. tratados com o extrato apresentou diminuição na produção dessa substância tóxica, onde esse fungo produziu 386,1 ppm e após a aplicação do tratamento reduziu para 3,01 ppm. Isto se dá devido o extrato de própolis inibir a via de biossíntese de aflatoxinas.

Entretanto, a forma exata da ação do extrato de própolis contra os fungos, ainda não é bem compreendida, necessitando de mais pesquisa para o conhecimento desse mecanismo ou como cada substância irá se comportar Wolska (2023), apesar disso o autor ainda descreve que mecanismo de ação envolve múltiplas ações, abrangendo desde a ruptura das membranas celulares, inibição de enzimas, até a interferência na sinalização das células fúngicas, entretanto, não é bem compreendido como este processo ocorre.

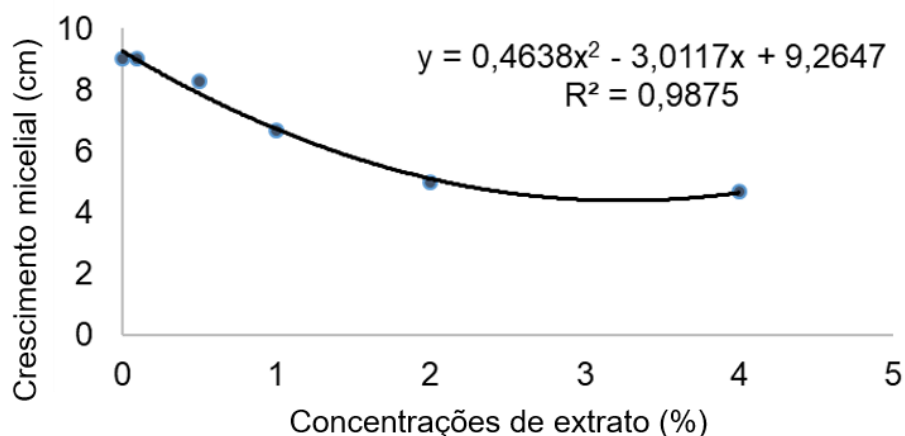
Após essa avaliação nota-se que com o aumento das concentrações de extrato houve uma redução do crescimento fúngico(Figura 7). Assim, avaliando o efeito nas diferentes doses do extrato, verifica-se que a partir da concentração 1% o crescimento micelial foi menor que o da testemunha (Figura 8).

Figura 7: Comparação do crescimento micelial de *Aspergillus* sp. submetidos às diferentes concentrações de extrato de própolis.



Fonte: Acervo pessoal, 2023.

Figura 8: Efeito de diferentes doses de extrato de própolis verde com álcool a 10% sobre o crescimento micelial de *Aspergillus* sp.



Conforme a equação gerada pela regressão, demonstrada na figura 8 e a utilização do modelo polinomial de ordem 2 foi possível calcular a inibições máximas estimadas e a concentração necessária para obter esse resultado. A estimativa demonstrou à quantidade máxima de inibição que pode ser alcançada é de 4,37 cm com uma concentração de 3,2 % de extrato de própolis.

Entretanto, Souza et al. (2017 a) utilizando extrato a 25 % conseguiu reduzir o crescimento micelial do fungo *Aspergillus* sp. em 71%, assim seu experimento

*in vitro* demonstrou que nesta concentração o fungo alcançou cerca de 1 cm de diâmetro, ressaltado que o seu valor máximo de crescimento sem o extrato foi em torno 3,5 cm.

Demonstrando que a diferença nas concentrações necessárias para a inibição máxima está profundamente ligada ao tipo de extrato de própolis utilizado, dependendo da região geográfica, da temperatura e do método de extração, as substâncias presentes podem variar, levando a diferentes efeitos antimicrobianos. No entanto, ambos os resultados indicam claramente que o extrato de própolis tem um efeito significativo na redução do crescimento do fungo.

### 4.3 *In vivo*

#### Primeiro experimento

A análise de variância demonstrou que a taxa de germinação (G%), sementes não germinadas (SN), Plântulas normais (PN) e Plântulas anormais (PA) não apresentou variação significativa entre as diferentes concentrações de extrato de própolis. Sendo este um indicativo que o extrato não afetou substancialmente o processo de germinação das sementes de milho (Tabela 5).

Tabela 5. Avaliação da taxa de germinação (G), sementes não germinadas (SG), plantas normais (PN), plântulas anormais (PA) e presença de fuga na semente (PF).

C%	G%	SG%	PN%	PA%	PF%
CP	99,2 a	0,8 a	68,0 a	32,0 a	50 b
A 10%	99,2 a	0,8 a	79,2 a	20,0 a	32,8 ab
1	98,0 a	1,6 a	73,6 a	24,8 a	24,8 a
2	99,2 a	0,8 a	86,4 a	13,6 a	25,6 a
4	99,2 a	0,8 a	88,8 a	10,4 a	22,4 a
6	98,4 a	0,8 a	84,0 a	15,2 a	16,8 a
CV (%)	1,92	76	20,7	82	21,67

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5%. C (%) = Concentração dos estratos de própolis. CP = Controle Positivo. A10% = Álcool 10%

Resultado semelhante ao encontrado por Souza et al. (2017 b) em que verificou que a utilização do extrato de própolis para a sanitização de sementes de couve-flor, não afetou a qualidade fisiológica de semente. Em experimentos

realizados com sementes de arroz e soja o extrato de própolis também não interferiu na qualidade fisiológica das sementes (Damascena, 2021).

Esse resultado indica que a semente apresenta um alto vigor, evidenciado pelos altos índices de germinação onde foi possível obter cerca de 96% de sementes germinadas e 76,9 % de desenvolvimento saudável das plântulas normais.

Deste modo, de acordo com as normativas para análise de sementes no Brasil regidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelecidas na Instrução Normativa nº 45/2013, para um lote de sementes de milho ser considerado de alto vigor, ele deve atender a critérios específicos de germinação, que em função categoria (Semente Básica, Certificada ou Identificada), podendo ser uma taxa mínima pode variar de 70% a 85% (Brasil, 2013).

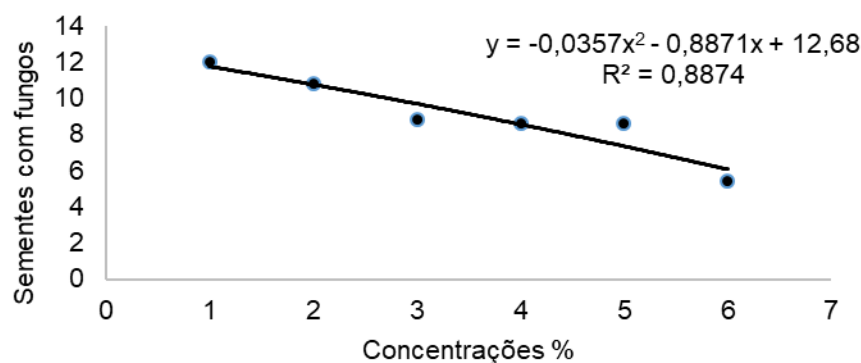
Inicialmente, a alta taxa de germinação confirma que as sementes possuem um alto vigor, ou seja, são capazes de germinar e se transformar em plantas sob as condições adequadas de solo, luz e umidade (Eskov et al., 2021). Este vigor das sementes é essencial para os agricultores, pois demonstra que as plantas cultivadas a partir dessas sementes terão maior probabilidade de estabelecer-se bem no campo em situações de condições adversas, além disso, as culturas originadas de plantas com alto vigor tende a serem mais resilientes (Chipenete et al., 2021).

A alta taxa de germinação e o desenvolvimento de plântulas normais também indicam uniformidade na plantação (Mishra et al., 2023). Os autores ainda destacam que as plantas cultivadas a partir de sementes vigorosas geralmente compartilham características semelhantes, como taxa de crescimento, tamanho e resistência a doenças, podendo beneficiar a gestão agrícola, permitindo aos produtores implementar o manejo agrícola de forma mais eficiente e obter colheitas mais uniformes.

Em relação ao crescimento fúngico, observa-se na Figura 9 que nas concentrações de 1%, 2%, 4% e 6% de extrato de própolis, houve uma redução significativa no crescimento de fungos em comparação com o grupo de controle (0%), sugerindo a capacidade do extrato de própolis em inibir o desenvolvimento do fungo *Aspergillus* sp. em sementes de milho. Além disso, o álcool a 10%

também exibiu algum efeito inibitório, bem menos eficaz quando comparado às concentrações mais elevadas do extrato.

Figura 9: Efeito de diferentes doses de extrato de própolis verde no aparecimento de sementes contaminadas com fungo.



Os fungos que estavam presentes na semente de milho antes de realizar os tratamentos, foram do gêneros: *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. , ressaltando que os fungos citados possui a capacidade de alterar a germinação da semente de milho de forma negativa, além disso, produz a aflatoxinas podendo interferir neste processo (Keromnes; Thouvenot, 1985, Bento et al., 2012, Khan et al., 2021; Panajaitan et al., 2020). Após o experimento observou a ocorrência dos mesmos gêneros de fungo na semente de milho, entretanto não afetou diretamente a germinação.

Apesar do surgimento dos mesmos gêneros de fungo nas sementes tratadas, a incidência desse microrganismo foi menor em concentrações de própolis mais acentuadas. Isso pode ser explicado, pois este trabalho já comprovou que o extrato de própolis possui propriedade antifúngica, devido conter uma variedade em compostos bioativos na sua composição, da mesma forma que desempenha um papel crucial na melhoria da qualidade das sementes de milho.

Assim, a pouca incidência de sementes contaminadas por fungo, pode ser explicada também devido a mesma criar uma barreira física eficaz contra a invasão de fungos e microrganismos patogênicos, inibindo enzimas e proteínas essenciais para o estabelecimento fúngico, além de interferir em processos metabólicos do fitopatógeno (Zulhendri et al., 2021).

O extrato da própolis também, tem sido associada ao estímulo do crescimento da plântula, estima-se que mesmo sem penetrar na semente, a mesma pode estar promovendo o desenvolvimento radicular e melhorar a absorção de nutrientes, resultando em uma planta mais resistente (King-Díaz et al., 2015). Ressalta-se que o antioxidante presente no extrato pode proteger as células vegetais contra danos oxidativos, principalmente no processo germinativo, quando as células estão passando por uma atividade metabólica intensa (Mohammadzadeh et al., 2007).

### Segundo experimento

A análise de variância revelou diferenças significativas nas taxas de germinação, indicando que a presença de extrato de própolis pode ter afetado o processo de germinação das sementes de milho (Tabela 6).

Tabela 6. Avaliação da taxa de germinação (G), sementes não germinadas (SG), plantas normais (PN), plântulas anormais (PA) e presença de fuga na semente (PF).

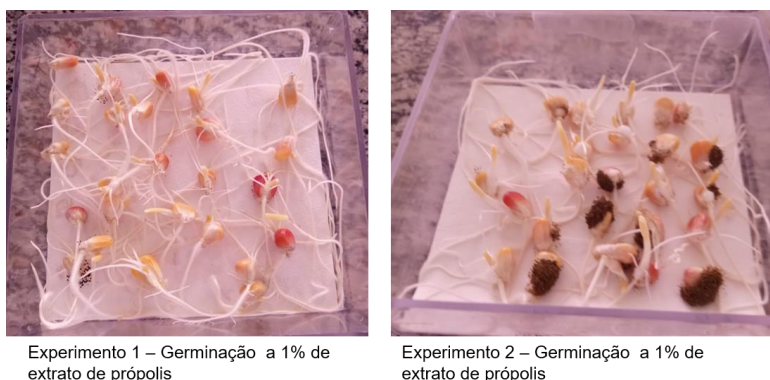
C (%)	G	SG	PN	PA	PF
CP	98,4 a	1,6 a	58,4 a	40,8	100 a
A10%	96 a b	4,0 b c	60,0 a	33,0	100 a
1	87,2 b	12,8 c	62,4 a	23,2	100 a
2	97,6 a	1,6 a	76,0 a	21,6	100 a
4	96,0 a b	4,0 b c	80,0 a	16,0	100 a
6	98,4 a	1,6 a	76,8 a	21,6	100 a
CV (%)	4,9	86,0	23,7	58,5	0,0

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5%. C (%) = Concentração dos extratos de própolis. CP = Controle Positivo. A10% = Álcool 10%

É crucial notar que, inicialmente, em comparação ao grupo controle positivo, as sementes tratadas com 1% de extrato de própolis apresentaram uma redução na taxa de germinação, comparada aos demais tratamento, entretanto o vigor da semente continua alto, com 87 % das sementes germinadas. Esta diminuição, entretanto, pode não ter sido causada pelo extrato de própolis, mas sim pelos esporos de *Aspergillus* sp., concentrados na semente, por ser a menor dose testada, não apresentou uma ação fungistático, pois, permitiu que o fungo se estabeleça na semente e interferisse na germinação.

Esta conclusão é mencionada pelo fato de que, no primeiro experimento, o extrato de própolis não interferiu no processo de germinação das sementes, além disso, dados apresentados com outras pesquisas apresentadas afirmam que o extrato não interfere na germinação. Surpreendentemente, nas concentrações mais altas de extrato de própolis (2%, 4% e 6%), a taxa de germinação não foi afetada, nessas concentrações foram respectivamente de 97,6%, 96,0% e 98,4%, e não diferiram estatisticamente do grupo controle (Figura 10).

Figura 10: Diferença na ocorrência de fungo, no experimento 1 e 2, sendo ambos referentes a concentração de extrato de própolis a 1%.



Fonte: Acervo pessoal, 2023.

O fato de todas as sementes estarem contaminadas com *Aspergillus* spp. após o experimento sugere que o tratamento com extrato de própolis não foi suficiente para inibir completamente o crescimento e desenvolvimento do fungo, na concentração de  $1 \times 10^6$  na quais as sementes foram submetidas.

É importante considerar que em condições naturais de campo, as sementes de milho geralmente não entram em contato com uma concentração tão elevada de esporos de fungos como foi simulado no experimento. Nas condições reais do ambiente, a exposição das sementes a patógenos fúngicos seria mais variada, como ocorreu no primeiro experimento que foi verificada a presença de *Aspergillus* sp., porém o fungo não se estabeleceu de modo a contaminar todas as sementes, podendo estar relacionado a ação do extrato da própolis.

Além disso, é importante compreender que o extrato de própolis não possui propriedades de erradicação, ou seja, não elimina completamente os fungos presentes nas sementes. Em vez disso, ele pode ter um papel mais eficaz como protetor (Souza et al., 2017). Atuando como um agente que ajuda a prevenir a



colonização fúngica inicial das sementes ou reduzir a taxa de infecção, em vez de eliminar completamente os esporos já presentes. Em caso de armazenamento onde nem todas as sementes estão infestadas o extrato pode criar uma barreira e proteger as sementes não contaminadas e reduzir a taxa de exposição da semente.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A composição química da própolis, são principalmente da classe dos terpenos, ácidos carboxílicos e benzofuranos, que provavelmente influenciou no extrato ser eficaz na inibição do crescimento micelial do fungo, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Por todos esses aspectos até aqui citados, pode-se inferir que o extrato de própolis verde possui potencial antifúngico contra o fungo *Aspergillus* sp. em sementes de milho.

A sinergia entre os componentes da própolis possivelmente contribuiu para sua eficácia antimicrobiana. No experimento *in vitro*, concentrações mais altas de extrato de própolis (2%, 4% e 6%) mostraram uma notável inibição do crescimento micelial do fungo, indicando um potencial significativo para seu uso como agente antifúngico. Porém, o extrato não eliminou completamente a contaminação fúngica. Além disso, o extrato não afetou negativamente a qualidade fisiológica das sementes de milho.

Por fim o extrato de própolis verde mostrou ser uma alternativa promissora para proteger as sementes de milho da contaminação fúngica, com potencial para melhorar a qualidade do armazenamento.

No entanto, mais pesquisas são necessárias para entender completamente os mecanismos de ação envolvidos, para otimizar as concentrações adequadas, e realizar uma análise econômica da utilização desse extrato. Além disso, tem-se produto com potencial, sendo uma alternativa natural que contribui com a diminuição do uso de produtos químicos.

## 6 REFERÊNCIAS

ALVES, A. C. L. **Qualidade fisiológica de sementes de milho sob efeito do tratamento de sementes e controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).** 2022. 51 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2022. Disponível em: <https://locus.ufv.br//handle/123456789/30765>. Acesso em: 08 Out. 2023.

APARICIO G. P. F. et al. Edible chitosan/propolis coatings and their effect on ripening, development of *Aspergillus flavus*, and sensory quality in fig fruit, during controlled storage. **Plants**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 112, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/1/112>. Acesso em: 22 Set. 2023.

BADIALE F., E. et al. Use of natural resources from Southern Brazil as a strategy to mitigate fungal contamination. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 61, n. 2, p. 275-282, 2021. Disponível em <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2020.1726868>. Acesso em: 13 Set. 2023.

BARROS, C. S. G. et al. Mensuração econômica da incidência de pragas e doenças no brasil: uma aplicação para as culturas de soja, milho e algodão Parte 1. **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA)**, [S. l.], 2019. Disponível em: [https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea\\_EstudoPragaseDoencas\\_Parte%201.pdf](https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_EstudoPragaseDoencas_Parte%201.pdf). Acesso em: 12 Set. 2023.

BARROS, D. B. et al. Antifungal activity of terpenes isolated from the Brazilian Caatinga: a review. **Brazilian Journal of Biology**, [S. l.], v. 83, p. e270966, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/NNCHzjk9cqH3CqC53cvQv/?lang=en>. Acesso em: 7 Set. 2023.

BARWANT, M.; LAVHATE, N. Isolation and maintenance of fungal pathogens *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. Int. **Journal of Applied and Natural Science**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 47-52, 2020. Disponível em : [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/68695644/29\\_04\\_2020\\_1588148860\\_8\\_IJANS\\_7\\_IJANS\\_ISOLATION-libre.pdf?1628686546=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DISOLATION\\_AND\\_MAINTENANCE\\_OF\\_FUNGAL\\_PATH.pdf&Expires=1696708172&Signature=bBcilxB1FU66cjqT2clNOrOp-PmGVePPFhtlWiFc6wTtTNRFF5X0yzXwhwAvPqbpu9GQr5sPOalZIK5axG9Wh2lAdMxLZ-IGpfN02BDctPzRLx7PCEE6VrSEZyqMrG9xroAXQoAJOa9UJvS2l8-tmP-QLuXwJ7QUzBM~k3wucnGgqbi0G0k6U9DGWNa~sqfwEi9R-iYdTf-y8ESe9LcVy5CxD5~KZ1LGuF~R13K5splUdniPq2FX2XhzSu3VdHOKf9lOu3Q0d7v7YOp3P-NOR0UVA6-r625lAtz0g6ndKln2AjrcR~Pu4o5jojv0mdQaQ0ScYxM0OUWEnWuE7dTQ\\_\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/68695644/29_04_2020_1588148860_8_IJANS_7_IJANS_ISOLATION-libre.pdf?1628686546=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DISOLATION_AND_MAINTENANCE_OF_FUNGAL_PATH.pdf&Expires=1696708172&Signature=bBcilxB1FU66cjqT2clNOrOp-PmGVePPFhtlWiFc6wTtTNRFF5X0yzXwhwAvPqbpu9GQr5sPOalZIK5axG9Wh2lAdMxLZ-IGpfN02BDctPzRLx7PCEE6VrSEZyqMrG9xroAXQoAJOa9UJvS2l8-tmP-QLuXwJ7QUzBM~k3wucnGgqbi0G0k6U9DGWNa~sqfwEi9R-iYdTf-y8ESe9LcVy5CxD5~KZ1LGuF~R13K5splUdniPq2FX2XhzSu3VdHOKf9lOu3Q0d7v7YOp3P-NOR0UVA6-r625lAtz0g6ndKln2AjrcR~Pu4o5jojv0mdQaQ0ScYxM0OUWEnWuE7dTQ__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA) . Acesso em: 7 Set. 2023.

BÉJI-SRAIRI, R. et al. Ethanolic extract of Tunisian propolis: chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative properties. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 59, n. 5, p. 917-927, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2020.1732572>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

BENTO, L. F. et al. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [S. l.], v. 71, n. 1, p. 44-49, 2012. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32389>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

BORIN, R.C. et al. Fosfitos associados a fungicidas para controle de doenças e sanidade de sementes de milho. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, Guarapuava-PR, v.10, n.1, p.83-92, 2017. Disponível em: <https://eds.s.ebscohost.com/abstract?site=eds&scope=site&jrnl=19836325&AN=124294354&h=Bb90Ktults4XM%2b3mzUOFDGH7ImI%2folpjPgdo2HLfK%2fopYIPNSLWRnNNtldhJAYOlggk1OC%2b1I2CwbETPDfVPzg%3d%3d&crl=c&resultLocal=ErrCrlNoResults&resultNs=Ehost&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue%26profile%3dehost%26scope%3dsite%26authtype%3dcrawler%26jrnl%3d19836325%26AN%3d124294354>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). [S. l.], 24 abr. 2023. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy\\_of\\_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-mel-e-produtos-apicolas](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy_of_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-mel-e-produtos-apicolas). Acesso em 16 Ago. 2023.

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 18 de setembro**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. n. 181. Seção 1, p. 16-37. 2013. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy\\_of\\_INN45de17desetembrode2013.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrode2013.pdf). Acesso em: 16 Ago. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF, 33p. 2009. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/15432327.pdf>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

CALDERÓN-OLIVER, M.; PONCE-ALQUICIRA, E. Fruits: A source of polyphenols and health benefits. In: **Natural and artificial flavoring agents and food dyes**. Academic Press [S. l.], 2018. p. 189-228. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128115183000077>. Acesso em: 19 Ago. 2023.

CAMPOS, J. V. de; ASSIS, O. B. G; BERNARDES FILHO, R. Processamento e análise de extratos de própolis verde como potencial sanitizante de uso hortifrutícola. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 2991-3002, 2021. Disponível em: [https://www.brazilianjournals.com/ojs/index.php/BJAER/article/download/32965/25824?\\_cf\\_chl\\_tk=as1tAlQ6s97C5Rk6q.Y7CQaNWYC.PRHdO7YayoB\\_4bM-1696705441-0-gaNycGzNDNA](https://www.brazilianjournals.com/ojs/index.php/BJAER/article/download/32965/25824?_cf_chl_tk=as1tAlQ6s97C5Rk6q.Y7CQaNWYC.PRHdO7YayoB_4bM-1696705441-0-gaNycGzNDNA). Acesso em: 19 Ago. 2023.

- CARDARELLI, M. et al. Seed treatments with microorganisms can have a biostimulant effect by influencing germination and seedling growth of crops. **Plants**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 259, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/3/259>. Acesso em: 19 Ago. 2023.
- CARVALHO, G. J. L. de; SODRÉ, G. da S. Application of propolis in agriculture. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S. l.], v. 88, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/4p6ssN5hLmGXKGJhMTw4tG/>. Acesso em: 19 Ago. 2023.
- CERQUEIRA, P; CUNHA, A.; ALMEIDA-AGUIAR, C. Potential of propolis antifungal activity for clinical applications. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 133, n. 3, p. 1207-1228, 2022. Disponível em: <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/133/3/1207/6989121?login=true>. Acesso em: 19 Ago. 2023.
- CHIPENETE, G. H. N. et al. Carrot seeds vigor on plant performance and crop yield. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2021. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7891371>. Acesso em: 19 Ago. 2023.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2022/2023**. 6º Levantamento [S. l.], Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. 2023. Acesso em: 19 Ago. 2023.
- COSTA, P. et al. Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methyl-ether and kaempferide from brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 226, 2018, p. 82-89. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874118321597>. Acesso em: 19 Ago. 2023.
- Cruz, J. C. et al. **Produção de milho na agricultura familiar**. Embrapa: Sete Lagoas, MG. Setembro. 2011. Disponível em : <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/905143/1/circ159.pdf>. Acesso em: 29 Abr. 2023.
- CUNHA, M. H. da. **Composição química e atividade biológica do extrato hidroalcoólico de própolis preta**. 2018. 49f. Dissertação (Mestrado Profissional em Sistemas Agroindustriais) - Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/2611> . Acesso em: 18 Mai. 2023.
- DAMASCENA, J. F. et al. Efeitos do extrato de própolis sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) E soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Revista Agroecossistemas**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 102-115, 2021. Disponível em:

<https://periodicos.ufpa.br/index.php/agroecossistemas/article/view/7540>. Acesso em: 18 Mai. 2023.

DIAS, F. H. C. et al. Efeito dos óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho crioulo. **Scientific Electronic Archives.**, [S. l.], v. 14, n. 9, 2021. DOI: 10.36560/14920211349. Disponível em:<https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1349>. Acesso em: 5 set. 2023.

DIBA, K. et al. In-vitro anti fungal activity of Propolis alcoholic extract on *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. **Tehran University Medical Journal**, [S. l.], v. 68, n. 2, 2010. Disponível em:  
<https://eds.s.ebscohost.com/abstract?site=eds&scope=site&jrnl=16831764&AN=78154028&h=3Sv5D%2biTz8MYjFgyAWAogMs7dftMcoueVX%2f24jEzHvEvsJyH%2bq1inezxiSze2U%2fquTfac9uaUE77Uz4erRWz1g%3d%3d&crl=c&resultLocal=ErrCrlNoResults&resultNs=Ehost&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue%26profile%3dehost%26scope%3dsite%26authtype%3dcrawler%26jrnl%3d16831764%26AN%3d78154028>. Acesso em: 18 Mai. 2023.

DUDOIT, A. et al. Antifungal activity of Brazilian red propolis extract and isolation of bioactive fractions by thin-layer chromatography-bioautography. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 327, p. 127060, 2020. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814620309225>. Acesso em: 18 Mai. 2023.

EL-KHATIB, A. S. et al. Prophylactic effect of aqueous propolis extract against acute experimental hepatotoxicity in vivo. **Zeitschrift für Naturforschung C**, [S. l.], v. 57, n. 3-4, p. 379-385, 2002. Disponível em:  
<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2002-3-430/html>. Acesso em: 04 Jun. 2023.

EMBRAPA. **Doenças na Cultura do Milho**. Circular Técnica 83, ISSN 1679-1150. Sete Lagoas – MG Dezembro, 2006. Disponível em:  
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/490415/1/Circ83.pdf>. Acesso em: 04 Jun. 2023.

ESKOV, I. D. et al. Influence of the seeding rate of seeds on the productivity of various corn hybrids in the conditions of the Saratov Right Bank. **Revista Científica Agrícola**, [S. l.], n. 1, pág. 8-13, 2021. Disponível em:  
[https://agrojr.ru/index.php/asj/article/view/1348\\_](https://agrojr.ru/index.php/asj/article/view/1348_) Acesso em: 04 Jun. 2023.

FAGUNDES, R. **A produção e o consumo de milho entre agricultores familiares do semiárido sergipano e o cuscuz nosso de cada dia**. Tese (Doutorado em Ciências Sociais). Programa de Pós- Graduação de Ciências Sociais em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:  
<https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/6308>. Acesso em: 04 Jun. 2023

FLORES, F. C.; BECK, R. C. R.; DA SILVA, C. DE B. Essential Oils for Treatment for Onychomycosis: A Mini-Review. **Mycopathologia**, [S. l.], v. 181, n. 1–2, 19

fev. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-015-9957-3>. Acesso em: 04 Jun. 2023

FAO- Food and Agriculture Organization. **Mudança climática influencia na perda da produção agrícola para pragas**, 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/BRASIL/NOTICIAS/DETAIL-EVENTS/PT/C/1411810/>. Acesso em: 04 Jun. 2023

FRANÇA-NETO, J. B. et al. Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n.380) Londrina: **Embrapa Soja**, [S. l.], 2016. 82 p. il Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151223/1/Documentos-380-OL1.pdf>. Acesso em: 04 Jun. 2023.

GARCÍA L. S.; SERNA S. S. O. **Corn History and Culture**. In: SERNA S. S. O. Corn: Chemistry and Technology. 3º. ed. rev. Oxford: AACCI International Press, 2019. [S. l.], v. 01, cap.1, p. 1-18. ISBN 978-0-12-811971-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2>. Acesso em: 30 ago. 2023.

GRECKA, K.; SZWEDA, P. Synergistic Effects of Propolis Combined with 2-Phenoxyethanol and Antipyretics on the Growth of *Staphylococcus aureus*. **Pharmaceutics**. [S. l.], 2021: 13; 198-215. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/2/215>. Acesso em: 04 Jun. 2023.

IBGE/SIDRA. **Censo Agropecuário 2017**: resultados definitivos. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. Disponível em: [https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2017/resultados-definitivos\\_](https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2017/resultados-definitivos_). Acesso em: 04 Jun. 2023.

JIHENE, A. et al. Volatile compounds analysis of Tunisian propolis and its antifungal activity. **Journal of Biosciences and Medicines**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. 115-131, 2018. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=85592>. Acesso em: 25 Ago. 2023.

JIMÉNEZ R. M. F. et al. Natural compounds: A sustainable alternative to the phytopathogens control. **Journal of the Chilean Chemical Society**, [S. l.], v. 64, n. 2, p. 4459-4465, 2019. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072019000204459\\_](http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072019000204459_). Acesso em: 25 Ago. 2023.

KEROMNES, J.; THOUVENOT, D. Role of penicillic acid in the phytotoxicity of *Penicillium cyclopium* and *Penicillium canescens* to the germination of corn seeds. **Applied and environmental microbiology**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 660-663, 1985. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aem.49.3.660-663.1985>. Acesso em: 25 Ago. 2023.

KETZER, F. et al. Uso do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* como fungicida alternativo para agricultura natural. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 6, n. 7, p. 45050-45059, 2020. Disponível em:

<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/12935>. Acesso em: 25 Ago. 2023.

KHAN, R. et al. Chromatographic analysis of aflatoxigenic *Aspergillus flavus* isolated from Malaysian sweet corn. **Separations**, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 98, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2297-8739/8/7/98>. Acesso em: 25 Ago. 2023.

KHARSANY, K. et al. The new buzz: Investigating the antimicrobial interactions between bioactive compounds found in South African propolis. **Journal of ethnopharmacology**, [S. l.], v. 238, p. 111867, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874119306233>. Acesso em: 25 Ago. 2023.

KING-DÍAZ, B. et al. Mexican propolis flavonoids affect photosynthesis and seedling growth. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [S. l.], v. 151, p. 213-220, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134415002687>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

KORRES, A. M. N et al. *Candida krusei* and *Kloeckera apis* inhibit the causal agent of pineapple fusariosis, *Fusarium guttiforme*. **Fungal biology**, [S. l.], v. 115, n. 12, p. 1251-1258, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878614611001620>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Características do milho doce (*Zea mays* L.) para industrialização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, [S. l.], v. 1, n. 2, 2007. Disponível em: <https://revistas.utfpr.edu.br/rbta/article/view/263>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

LACERDA, R. C. C; TIVERON, A. P; DE ALENCAR, S M. Própolis e segurança alimentar. **Segurança alimentar e nutricional**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 99-106, 2011. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8634682>. Acesso em: 16 Ago. 2023..

LUSTOSA, S. R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S. l.], v. 18, p. 447-454, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/x4sTg6wQWMW6zNLKfdp5hDb/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 16 Ago. 2023

LOEBLER, Marcella et al. Potential application of propolis extracts to control the growth of *Stemphylium vesicarium* in “Rocha” pear. **Applied Sciences**, v. 10, n. 6, p. 1990, 2020.

MAGALHAES, P. C. et al. Desenvolvimento do milho segunda safra: fatores genético-fisiológicos, plataforma de conhecimento e práticas de manejo de cultivo e uso, visando sustentabilidade de produção e produtividade no binômio

soja/milho. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2020. 42 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 258). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1128757>. Acesso em: 16 Ago. 2023

MAHMOODZADEH HOSSEINI, Hamideh et al. The effect of Propolis on inhibition of *Aspergillus parasiticus* growth, aflatoxin production and expression of aflatoxin biosynthesis pathway genes. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, [S. l.], v. 18, p. 297-302, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40201-020-00467-y>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

MAIA, L.C. CARVALHO JUNIOR, A. A. **Introdução: os fungos do Brasil**. In: FORZZA, RC., org., et al. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online]. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 43-48. Vol. 1. ISBN 978-85-8874-242-0. Available from SciELO Books. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/x5x7v/pdf/forzza-9788560035090.pdf>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba, SP. FEALQ. 2015. 495p.

MARENA, G. D. et al. Natural product-based nanomedicine applied to fungal infection treatment: A review of the last 4 years. *Phytotherapy Research*, v. 36, n. 7, p. 2710-2745, 2022

MARCUCCI, M. C. et al. Accessible Methodologies for Quantification of Flavonoids and Total Phenols in Propolis. **Revista Virtual De Química**. Niterói: Brazilian Chemical Soc, v. 13, n. 1, p. 61-73, 2021. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/210080>. Acesso em: 29 Ago. 2023

MARENCO, J. A. et al. rought in Northeast Brazil: A review of agricultural and policy adaptation options for food security. **Resiliência Climática e Sustentabilidade**. [S. l.], v. 1, n. 1, pág. e17, 2022. Disponível em: <https://rmets.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cli2.17>. Acesso em: 29 Ago. 2023

MARINI, D. et al. Efeito antifúngico de extratos alcoólicos de própolis sobre patógenos da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S. l.], v. 79, p. 305-308, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/yBhSLBWNSDq3zp77C3hBHHF/?lang=pt>. Acesso em: 29 Ago. 2023.

MISHRA, S. N. et al. A Review: Combination of Fungicide, Polymer Coating and Packaging Materials on Improve Germination Rate and Improve Uniformity of Seedling Emergence of Different Seeds during Storage. **International Journal of Environment and Climate Change**, [S. l.], v. 13, n. 8, p. 2142-2157, 2023.



<https://journalijecc.com/index.php/IJECC/article/view/2173>. Acesso em: 29 Ago. 2023.

MOHAMMADZADEH, S. et al. Antioxidant power of Iranian propolis extract. **Food chemistry**, [S. l.], v. 103, n. 3, p. 729-733, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606007266>. Acesso em: 29 Ago. 2023.

MONTEIRO, M. C. P. **Identificação de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do cerrado**. Orientador: Dr. Luís Roberto Batista. 2012. 77 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012. Disponível em: [http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/706/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O\\_Identifica%C3%A7%C3%A3o%20de%20fungos%20dos%20g%C3%AAneros%20Aspergillus%20e%20Penicillium%20em%20solos%20preservados%20do%20cerrodo.pdf](http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/706/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Identifica%C3%A7%C3%A3o%20de%20fungos%20dos%20g%C3%AAneros%20Aspergillus%20e%20Penicillium%20em%20solos%20preservados%20do%20cerrodo.pdf). Acesso em: 22 ago. 2023.

MONTEIRO, J. R. et al. Sanitary and physiological quality of corn seeds (*Zea mays*) treated with essential oil emulsion. **Scientific Electronic Archives**, v. 13, n. 12, p. 31-35, 2020.

MUNKVOLD, G.P. et al. Mycotoxins in corn: Occurrence, impacts, and management. In: SERNA S. S. O. *Corn: Chemistry and Technology*. 3<sup>o</sup>. ed. rev. **Oxford: AACC International Press**, [S. l.], 2019. v. 01, cap.09, p. 1-18. ISBN 978-0-12-811971-6. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128119716000097>. Acesso em: 30 ago. 2023.

NERBASS, F. R.; CASA, R. T; ANGELO, H. R. Sanidade de sementes de milho comercializadas na safra agrícola de 2006/07 em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 30-36, 2008. Disponível em: <https://revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/5332>. Acesso em: 7 out. 2023.

NOGUEIRA, W. V. **Realidades e perspectivas em Ciência dos Alimentos**. 2020. Disponível em: <https://editorapantanal.com.br/ebooks/2020/realidades-e-perspectivas-em-ciencia-dos-alimentos/ebook.pdf>. Acesso em: 29 Ago. 2023.

NUNES, C.D.M. **Importância do uso de sementes de boa qualidade de arroz irrigado para safra 2011/2012**. Nov. 2011 Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/noticias/artigoimportancia-do-uso-de-sementes-de-boa-qualidade-de-arroz-irrigado-para-a-safra-2011-2012>. Acesso em: 29 Ago. 2023.

OLIVEIRA, A. G. et al. Transmissibility of *Fusarium* spp. in corn seeds under different exposure times. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 11, n. 16, p. 1-12. 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i16.37785. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/37785>. Acesso em: 5 set. 2023.

OLIVEIRA, P. F. et al. Comparative Evaluation of Antiproliferative Effects of Brazilian Green Propolis, Its Main Source *Baccharis Dracunculifolia*, and Their

Major Constituents Artepillin C and Baccharin. **Planta Medica**, [S. l.], v. 80, n. 6, 2014, p. 490- 492. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0034-13682987>. Acesso em: 5 set. 2023.

PANJAITAN, L. et al. Efficacy of Sulfuryl Fluoride as a Fumigant against *Aspergillus niger* on Corn Seeds. **Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 48-53, 2020. Disponível em: <https://journal.ugm.ac.id/jpti/article/view/34822>. Acesso em: 5 set. 2023.

PARAVAR, A. et al. Microbial seed coating: an attractive tool for sustainable agriculture. **Biotechnology Reports**, [S. l.], p. e00781, 2023. Disponível em : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9841043/#:~:text=The%20function%20of%20seed%20coating,%5D%2C%20%5B16%5D%5D>. Acesso em: 5 set. 2023.

PEREIRA, C.S.; MAIA, L.F.P.; PAULA, F.S. Aplicação extrato etanólico de própolis no crescimento e produtividade do feijoeiro comum. **Revista Ceres**, [S. l.], v.61, n.1, p.98-104, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/CPxj5fjgb9qGyCYbGJHyBFx/?lang=pt>. Acesso em: 08 Out. 2023

PIVA, C. A. G. **Extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro**. 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

PRESTES, I. D. et al. Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. **Scientia Agropecuaria**, [S. l.], v. 10, n. 4, p. 559-570, 2019. Disponível em: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000400013&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000400013&script=sci_arttext&tlng=en). Acesso em: 22 Set. 2023.

REHMAN, F. et al. Seed-Borne Fungal Diseases of Maize (*Zea mays* L.): A Review. **Agrinula : Jurnal Agroteknologi dan Perkebunan**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 43-60, 12 fev. 2021. Disponível em: <https://www.journal.utnd.ac.id/index.php/agri/article/view/123>. Acesso em: 22 Set. 2023.

RODRIGUES, A. R. da S. P.; LIMEIRA, G. N. Uso de fungos na agricultura: Uma revisão com ênfase na aplicação em sistemas agroecológicos. **Revista Ambientale**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1-12, 2023. Disponível em: <https://periodicosuneal.emnuvens.com.br/ambientale/article/view/410>. Acesso em: 22 Set. 2023.

SÁENZ R., M. N.; CASSAB, G. L. Primary root and mesocotyl elongation in maize seedlings: Two organs with antagonistic growth below the soil surface. **Plants**, v. 10, n. 7, p. 1274, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/7/1274>. Acesso em: 22 Set. 2023.

SANTOS, E. R. D. Material complementar ao livro Sistemática Vegetal I: **Fungos**. In: Paulo Antunes Horta Junior (Org.). Universidade Federal de Santa Catarina,

Florianópolis, 2015. Disponível em:  
<https://uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Fungos.pdf>. Acesso em: 22 Set. 2023.

SANTOS, M.S.; CARVALHO, A.L.C. **Preparação de extratos secos hidroalcoólico de própolis e geoprópolis**. Cruz das Almas-Ba: Boletim Técnico-Científico Insecta, 2021. V1. 2p. Disponível em:  
[https://www2.ufrb.edu.br/boletiminsecta/images/Edicoes/N.2\\_2021/Boletim\\_Insecta\\_n02-\\_abr.2021\\_1.pdf](https://www2.ufrb.edu.br/boletiminsecta/images/Edicoes/N.2_2021/Boletim_Insecta_n02-_abr.2021_1.pdf). Acesso em: 30 jun. 2023.

SCAGLIONI, P. T.; FURLONG, E. B. Mitigação da contaminação fúngica e produção de micotoxinas em cultivos de trigo e milho pela aplicação de extratos de microalgas. **REALIDADES E PERSPECTIVAS**, [S. l.], p. 6, 2020. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Priscila-Scaglioni-2/publication/344763648\\_Mitigacao\\_da\\_contaminacao\\_fungica\\_e\\_producao\\_de\\_micotoxinas\\_em\\_cultivos\\_de\\_trigo\\_e\\_milho\\_pela\\_aplicacao\\_de\\_extratos\\_de\\_microalgas/links/6018293e92851c2d4d0c3f4c/Mitigacao-da-contaminacao-fungica-e-producao-de-micotoxinas-em-cultivos-de-trigo-e-milho-pela-aplicacao-de-extratos-de-microalgas.pdf#page=7](https://www.researchgate.net/profile/Priscila-Scaglioni-2/publication/344763648_Mitigacao_da_contaminacao_fungica_e_producao_de_micotoxinas_em_cultivos_de_trigo_e_milho_pela_aplicacao_de_extratos_de_microalgas/links/6018293e92851c2d4d0c3f4c/Mitigacao-da-contaminacao-fungica-e-producao-de-micotoxinas-em-cultivos-de-trigo-e-milho-pela-aplicacao-de-extratos-de-microalgas.pdf#page=7). Acesso em: 22 Set. 2023.

SEBRAE. Boletim: **O Mercado da própolis**. Disponível em:  
[https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS\\_CHRONUS/bds/bds.nsf/cdb856e1dedd81e245438b6ba5ea2c4f/\\$File/4612.pdf](https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/cdb856e1dedd81e245438b6ba5ea2c4f/$File/4612.pdf). Acesso em: 22 Set. 2023  
SEGURA P., M. A. et al. Use of natural products on the control of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxins *in vitro* and on tomato fruit. **Plants**, v. 10, n. 12, p. 2553, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/12/2553>. Acesso em: 22 Set. 2023.

SENA, D. V. de. A; ALVES, E. U.; MEDEIROS, D. S. de. Vigor de sementes de milho cv.'Sertanejo por testes baseados no desempenho de plântulas. **Ciência Rural**, [S. l.], v. 45, p. 1910-1916, 2015. Disponível em:  
<https://www.scielo.br/j/cr/a/FgRhcYFqFFXrkcq3S8s6MZm/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 22 Set. 2023.

SENAR. **Milho é uma das principais fontes de alimento do brasileiro, com importância estratégica nas exportações do agronegócio**. Disponível em <https://cnabrazil.org.br/noticias/milho-%C3%A9-uma-das-principais-fontes-de-alimento-dobrasileiro-com-import%C3%A2ncia-estrat%C3%A9gica-nas-exporta%C3%A7%C3%B5esdo-agroneg%C3%B3cio>. 2016. Acesso em: 16 Ago. 2023.

SILVA-CASTRO, Iosody et al. Control of Coffee Leaf Rust by chitosan oligomers and propolis. In: **Agric. Life Life Agric. Conf. Proc.** 2018. p. 311-315.

SILVA, F. C.da. et al. Taxonomia polifásica para identificação de *Aspergillus* seção *flavi*: uma revisão. **Revista Eletrônica Sala de Aula em Foco**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 18-40, 2015. Disponível em:  
<https://ojs.ifes.edu.br/index.php/saladeaula/article/view/235>. Acesso em: 04 Jun. 2023.

SOUZA, E. P. de et al. Doses de extrato de própolis no controle do fungo *Aspergillus* sp. e no tratamento de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 360-364, 2017 a. Disponível em: <https://seer.tupa.unesp.br/index.php/BIOENG/article/view/578>. Acesso em: 7 oct. 2023.

SOUZA, E. P. de et al. Extrato de própolis no controle do *Penicillium* sp. e na qualidade de sementes de couve-flor. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 135-141, 2017 b. Disponível em: <https://seer.tupa.unesp.br/index.php/BIOENG/article/view/514>. Acesso em: 7 set 2023.

TÜRK, M. U.; ŞAHINLER, N.; DINLER, H. Chemical Structure and Antifungal Activity of Aegean Region of Propolis in Türkiye. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. 2571-2582, 2022. Disponível em: <https://www.agrifoodscience.com/index.php/TURJAF/article/view/5718#>. Acesso em: 08 Out. 2023.

UGALE, V. et al. Benzofurano-isatins: Search for antimicrobial agents. **Jornal Árabe de Química**, [S. l.], v. S389-S396, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535212002274>. Acesso em: 08 Out. 2023.

VENTURA A. R. I. et al. Effect of biodegradable coatings on the growth of *Aspergillus flavus* *in vitro*, on maize grains, and on the quality of tortillas during storage. **Molecules**, [S. l.], v. 27, n. 14, p. 4545, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/14/4545>. Acesso em: 7 Set. 2023.

VICA, M. L. et al. Phyto-Inhibitory and Antimicrobial Activity of Brown Propolis from Romania. **Antibiotics**, [S. l.], v. 12, n. 6, p. 1015, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/6/1015>. Acesso em: 7 Set. 2023.

VIDAL, M. de F. **Potencial da produção de própolis no Nordeste**. Banco do Nordeste 2021. [https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/728/1/2021\\_CDS\\_153.pdf](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/728/1/2021_CDS_153.pdf). Acesso em: 7 Set. 2023.

WESTENDORFF, N. D. R. **Desempenho agrônômico de soja e milho implantados com semeadoras desenvolvidas para a agricultura familiar**. 2019.116p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. Disponível em: <http://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/8481>. Acesso em: 7 Set. 2023.

WOLSKA, K.; ANTOSIK, K.. The activity of propolis against pathogenic fungi isolated from human infections. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 59, p. e19978, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjps/a/VTjzXxmQJpNhmpTshG5rr6j/>. Acesso em: 16 Ago. 2023.

WUADEN, C. R. et al. Antifungal activity of propolis alcoholic extract, grain alcohol, and basil essential oil on *Botrytis cinerea*. In: **Colloquium Agrariae**. Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), 2018. p. 48-55. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203011471>. Acesso em: 22 Set. 2023

ZANCANARI, N. S. **Anatomia e morfologia de plantas de milho com diferentes números de alelos transgênicos**. Orientador: Dra. Fabíola Vitti Mõro. 2019. 61 p. Dissertação (Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal, 2019. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/183672>. Acesso em: 12 jul. 2023.

ZULHENDRI, F. et al. Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: A review. **Foods**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 1360, 2021. <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/6/1360>. Acesso em: 16 Ago. 2023.