

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA
CURSO DE BACHARELADO EM AGROECOLOGIA

NADIANE FRANÇA DA SILVA

**RENDIMENTO E AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS
SOBRE O FUNGO FITOPATOGÊNICO *Cladosporium* sp**

BANANEIRAS-PB
2022

NADIANE FRANÇA DA SILVA

**RENDIMENTO E AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE O
FUNGO FITOPATOGÊNICO *Cladosporium* sp**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso Bacharelado em Agroecologia, do Departamento de Agricultura, do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Bacharela em Agroecologia.

Orientador: Dr. Marcos Barros de Medeiros
Coorientador: Dr. Natanaelma Silva da Costa

BANANEIRAS-PB
2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586r Silva, Nadiane Franca da.

Rendimento e ação inibitória de extratos vegetais
sobre o fungo fitopatogênico *Cladosporium* sp / Nadiane
Franca da Silva. - João Pessoa, 2022.

22 f. : il.

Orientação: Marcos Barros de Medeiros.

Coorientação: Natanaelma Silva da Costa.

TCC (Graduação) - UFPB/CCHSA.

1. Fitopatologia. 2. Extratos botânicos. 3. Controle
fitossanitário. I. Medeiros, Marcos Barros de. II.
Costa, Natanaelma Silva da. III. Título.

UFPB/CCHSA-BANANEIRAS

CDU 631.8 (043)

Elaborado por DAVID KILDER GOMES DA SILVA - CRB-15/887

BANANEIRAS-PB
2022

NADIANE FRANÇA DA SILVA

**RENDIMENTO E AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS
SOBRE O FUNGO FITOPATOGÊNICO *Cladosporium* sp**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso Bacharelado em Agroecologia, do Departamento de Agricultura, do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Bacharela em Agroecologia.

Aprovado em: 25 de novembro de 2022.

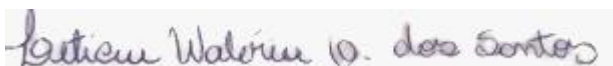
Banca Examinadora



Prof . Dr. Marcos Barros de Medeiros
Orientador



Prof . Dr. Natanaelma Silva da Costa
Coorientadora



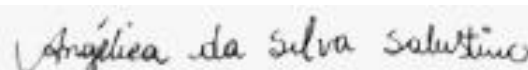
Mestranda Letícia Waléria Oliveira dos Santos
Membro Examinado



Me. Joseliane Fernandes Miguel dos Santos
Membro Examinado



Dr. Renata da Silva Leandro
Membro Examinado Suplente



Dr. Angélica da Silva Salustino
Membro Examinado Suplente

BANANEIRAS-PB

2022

RESUMO

A presença de fungos fitopatogênicos na agricultura afeta a produtividade e ocasiona perdas econômicas significativas. O controle desses microrganismos é comumente realizado através de agentes químicos, porém, mesmo diante de sua eficiência, esses produtos são considerados contaminantes do solo, ar, água, podendo também comprometer a saúde de manipuladores. Com isso, se estabelece a demanda pelo desenvolvimento de alternativas sustentáveis de controle desses agentes biológicos. Neste cenário, as plantas e seus metabólitos secundários surgem como uma alternativa proeminente em função de seu potencial fungitóxico. A partir desse pressuposto objetivou-se avaliar o rendimento e a potencial toxicidade de extratos vegetais hidroetanólicos sobre o fungo fitopatogênico *Cladosporium* sp. Para realização da pesquisa o fungo fitopatogênico *Cladosporium* sp. foi coletado de plantas de Quiabo (*Abelmoschus esculentus*). O estabelecimento da cultura fúngica e posterior isolamento, identificação e teste de inibição se deram no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). A obtenção dos extratos vegetais hidroetanólicos do bulbo de alho (*Allium sativum*), da raiz do gengibre (*Zingiber officinale*) e o fruto da pimenta do reino (*Piper nigrum*) ocorreu na Clínica Fitossanitária do CCHSA-UFPB, através do método de maceração utilizando-se como solvente etanol 70%. O teste de inibição foi organizado em Delineamento Inteiramente Casualizado com esquema fatorial 4x3, sendo o fator 1 os três extratos vegetais testados: *A. sativum*, *Z. officinale*, *P. nigrum* e o controle (BDA) e o fator 2 as três concentrações: 5%, 10% e 15%. Para o teste de inibição os extratos vegetais foram adicionados, nas diferentes concentrações, ao meio BDA e após plaqueamento e resfriamento inoculou-se uma suspensão 100 µ, no centro da placa, contendo 1x10² esporos de *Cladosporium* sp/mL, possibilitando a exposição direta do fungo aos extratos. A avaliação foi realizada a partir da avaliação do diâmetro das colônias fúngicas estabelecidas. Foram calculados o índice de crescimento micelial (IMC) e a porcentagem de inibição micelial (PIC). Os rendimentos obtidos a partir da produção dos extratos vegetais hidroetanólicos de *A. sativum*, *Z. officinale* e *P. nigrum* foram, respectivamente, de 48,27%, 36,83% e 47,42%, destacando-se o extrato de vegetal de *A. sativum* com o maior rendimento. Todos os extratos vegetais apresentaram toxicidade sobre *Cladosporium* sp. O extrato de *A. sativum* também se destacou apresentando o menor ICM, 5,56 na concentração de 10% e de 3,20 na de 15%, e os maiores PIC, 86,65% e 94,82%, nas concentrações de 10% e 15%, respectivamente, apresentando-se como extrato com maior toxicidade para *Cladosporium* sp. quando comparado com os demais extratos. Os extratos vegetais podem ser considerados uma alternativa em potencial para o controle de fungos fitopatogênicos como o *Cladosporium* sp.

Palavras-chave: Fitopatologia, extratos botânicos, controle fitossanitário

ABSTRACT

The presence of phytopathogenic fungi in agriculture affects productivity and causes significant economic losses. The control of these microorganisms is commonly performed through chemical agents, however, even with their efficiency, these products are considered contaminants of soil, air, water, and can also compromise the health of handlers. Thus, the demand for the development of sustainable alternatives for the control of these biological agents has been established. In this scenario, plants and their secondary metabolites emerge as a prominent alternative due to their fungitoxic potential. Based on this assumption, the objective was to evaluate the yield and potential toxicity of hydroethanolic plant extracts on the phytopathogenic fungus *Cladosporium* sp. To carry out the research, the phytopathogenic fungus *Cladosporium* sp. was collected from Okra (*Abelmoschus esculentus*) plants. The establishment of fungal culture and subsequent isolation, identification and inhibition test took place in the Microbiology Laboratory of the Center of Social and Agrarian Human Sciences (CCHSA) of the Federal University of Paraíba (UFPB). The hydroethanolic vegetal extracts from garlic bulb (*Allium sativum*), ginger root (*Zingiber officinale*) and bell pepper fruit (*Piper nigrum*) were obtained in the Phytosanitary Clinic of CCHSA-UFPB by maceration method using 70% ethanol as solvent. The inhibition test was organized in an Completely Randomized Delineation with a 4x3 factorial scheme, with factor 1 being the three plant extracts tested: *A. sativum*, *Z. officinale*, *P. nigrum* and the control (BDA) and factor 2 the three concentrations: 5%, 10% and 15%. For the inhibition test, the plant extracts were added, in different concentrations, to the BDA medium and, after plating and cooling, a 100 μ suspension was inoculated in the center of the plate, containing 1×10^2 spores of *Cladosporium* sp/mL, allowing the direct exposure of the fungus to the extracts. The evaluation was performed by assessing the diameter of the established fungal colonies. The mycelial growth index (MPI) and the percentage of mycelial inhibition (PIC) were calculated. The yields obtained from the production of hydroethanolic plant extracts of *A. sativum*, *Z. officinale* and *P. nigrum* were 48.27%, 36.83% and 47.42%, respectively, highlighting the plant extract of *A. sativum* with the highest yield. All plant extracts showed toxicity on *Cladosporium* sp. The extract of *A. sativum* also stood out presenting the lowest MCI, 5.56 in the 10% concentration and 3.20 in the 15% concentration, and the highest PIC, 86.65% and 94.82%, in the concentrations of 10% and 15%, respectively, presenting itself as the extract with the highest toxicity for *Cladosporium* sp. when compared to the other extracts. The plant extracts can be considered a potential alternative for the control of phytopathogenic fungi such as *Cladosporium* sp.

Keywords: Phytopathology, botanical extracts, phytosanitary control

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	8
2.1 LOCAL DE DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO	8
2.2 COLETA ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO FUNGO	8
2.2.1 Coleta do exemplar do fungo fitopatogênico	8
2.2.2 Identificação do fungo coletado	9
2.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS HIDROETANÓLICOS.....	10
3 APRESENTAÇÃO DOS DADOS COLETADOS	13
4 CONCLUSÃO	18
REFERÊNCIAS.....	19

1 INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo agentes fitopatogênicos como: vírus, bactérias, oomicetos, fungos e nematóides são responsáveis por perdas significativas na agricultura. Dentre esses agentes causadores de doenças em plantas os fungos fitopatogênicos se destacam por causarem o maior impacto econômico no setor agrícola, provocando maiores perdas econômicas (BRUM et al., 2017; SILVA et al., 2019).

O controle dessas doenças fúngicas em plantas é geralmente realizado com aplicação de fungicidas, que podem causar danos ao meio ambiente, podendo afetar o equilíbrio do agroecossistema. Dessa forma, se faz necessário o uso de práticas mais sustentáveis para controle de fungos fitopatogênicos, e dentre as possibilidades, o emprego de extratos de plantas, com propriedades fungitóxicas, pode representar uma alternativa ao uso de fungicidas comerciais (CHOUDHURY et al., 2018; BASTOS, 2018).

Pesquisas utilizando diferentes concentrações de extratos vegetais e seus metabólitos secundários com atividade inibitória ou tóxica sobre fungos têm aumentado consideravelmente, e vêm apresentando resultados positivos, demonstrando potencial para o controle dos fungos fitopatogênicos. Como é o caso do alho (*Allium sativum*), pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) e o Gengibre (*Zingiber officinale*), que podem apresentar em sua composição compostos bioativos fungitoxicos (REFERENCIAR). (BASEGGIO et al., 2019; BERNARDO et al., 2015; SOUZA ELLER, 2015).

O *A. sativum*, conhecido popularmente como alho, pertence à família Amarylidaceae, seu bulbo é conhecido como “cabeça de alho”, sendo essa a parte da planta mais usada e o local onde se encontram majoritariamente os constituintes ativos, dos quais se destaca a aliina. Com a trituração ocorre a exposição da aliina à enzima alinase, formando-se a alicina, tendo sido o primeiro composto de enxofre a ser descoberto. A alicina encontrada no alho é responsável por uma ampla gama de atividades antioxidantes do *A. sativum*, além da capacidade de inibir a proliferação de bactérias e fungos, possuir a capacidade de inibição de células cancerígenas, podendo causar até a morte das mesmas (CAVALLITO e BAILEY, 1944; KIM et al., 2009; BORLINGHAUS et al., 2014).

Já a *P. nigrum*, conhecida como pimenta-do-reino ou pimenta preta, pertence à família Piperaceae, suas sementes são utilizadas há muitos anos como condimento para preparo de alimentos, assim como, na medicina popular em confecções de cataplasmas, pomadas e cremes para o tratamento de diversos problemas relacionados à saúde, devido suas ações terapêuticas

sob organismo afetado (CARNEVALLI, 2013). Possivelmente seu uso pode também impedir a proliferação de bactérias causadoras de infecções.

O *Z. officinale* popularmente conhecido como gengibre que é uma raiz que vem demonstrando como alternativa terapêutica antimicrobiana (LEMOS et al, 2021). Essa planta pertence à família Zingiberaceae, em seu rizoma encontra-se o composto químico gingerol e o zingibereno, considerados antimicrobianos (YEH et al., 2014). Como aponta a pesquisa de Corrêa et al (2014), o uso do extrato de gengibre demonstrou potencial antifúngico no controle in vitro dos fungos *Botrytis cinerea* e *Dendrophoma obscurans* do morangueiro.

Estudos vêm sendo realizados com essas espécies atestando seu potencial fungitóxico, contudo aprofundar esses ensaios e buscar doses/concentrações mais eficientes torna-se um campo de estudo promissor (KUTAWA, DANLADI, HARUNA, 2018; MAHBOUBI, 2019; MUÑOZ CASTELLANOS, 2020; ZHANG et al., 2021; KALHORO, 2022). Dessa forma e tendo em vista a importância de desenvolver alternativas para uma produção mais sustentável de alimentos, objetivou-se com essa pesquisa avaliar o rendimento e o potencial de toxicidade de extratos vegetais hidroetanólicos sobre o fungo fitopatogênico *Cladosporium* sp.

2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

2.1 LOCAL DE DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO

A pesquisa foi realizada no Laboratório da Clínica Fitossanitária do setor de Agricultura e no laboratório de Microbiologia de Alimentos no Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial (DGTA), ambos do Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA) Campus III, da Universidade Federal da Paraíba, localizado no município de Bananeiras, no estado da Paraíba, Brasil.

2.2 COLETA ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO FUNGO

2.2.1 Coleta do exemplar do fungo fitopatogênico

Inicialmente, nos cultivos de hortaliças do Setor de Agricultura do Campus III da UFPB, foi realizada a identificação de espécies vegetais com sinais de patógenos em suas estruturas. Sendo selecionadas folhas de Quiabo (*Abelmoschus esculentus*), em função da espécie apresentar focos mais numerosos e agressivos de infecção fúngica, quando comparada com as demais plantas (Figura 1).

Figura 1 – Sinais do patógeno na folha de *A. esculentus*



Fonte: autores (2021)

Posteriormente, fragmentos do material afetado com patógenos foram transportados ao laboratório, com o auxílio de uma pinça foram colocados em uma placa de petri com álcool a 70% por 2 minutos, passou-se para outra com hipoclorito de sódio a 0,5% por 2 minutos e em seguida os fragmentos foram higienizados com água destilada estéril por três vezes. Na sequência, transferiu-se o material para um papel toalha, após, os fragmentos das plantas foram adicionados em placas de Petri, previamente preparadas com o meio de cultura BDA (Batata-Ágar-Dextrose) seguindo a metodologia de Carollo (2016).

Para realizar o isolamento do material biológico contaminado com o patógeno, amostras foram transferidas para placa de *petri* contendo BDA e condicionadas em câmara B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio) possuindo condições necessárias para desenvolvimento dos microrganismos. Para a seleção do fungo majoritariamente presente na amostra e causador das injúrias presentes no vegetal, foi necessário realizar multiplicações sequenciais, até o crescimento micelial puro do patógeno, que possibilitasse a identificação do fungo fitopatogênico

2.2.2 Identificação do fungo coletado

Após a formação da cultura fúngica pura, foi realizada a identificação do fungo, com o auxílio do microscópio óptico foi possível visualizar a estrutura micelial do fungo, após coloração com uma gota de azul de metileno, a identificação visual foi realizada a partir da comparação da imagem obtida no microscópio com as que se encontram presentes na literatura e banco de dados.

2.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS HIDROETANÓLICOS

As tinturas foram produzidas com base na metodologia de Costa (2011), a produção dos extratos se deu a partir do material vegetal de 3 espécies, sendo elas: o bulbo do alho (*A. sativum*), a raiz do gengibre (*Z. officinale*) e o fruto da pimenta (*P. nigrum*), em sua forma comercial. O material utilizado na pesquisa foi adquirido na feira livre do município de Solânea - PB.

Para a obtenção dos extratos, os materiais vegetais foram higienizados, sendo submetidos a uma lavagem preliminar em água corrente e após isso, foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio à 2% por 15 minutos. Após a retirada do material da solução sanitizante, o alho e o gengibre foram particionados em pequenos pedaços para facilitar o processo de desidratação (Figura 2).

Figura 2 - a) Fruto da Pimenta; b) Visualização dos cortes das estruturas do alho; c) Vista da estrutura vegetal do Gengibre após submetido à cortes.



Fonte: autor (2021)

Após a higienização e corte, o material vegetal foi colocado em estufa com circulação de ar forçada, condicionadas em temperatura de 45°C por 72 horas, após a secagem o material foi processado no moinho de facas, ficando o pó seco (Figura 3).

Figura 3 - a) Material vegetal seco do bulbo do alho (*A. sativum* L.); b) Material vegetal sendo triturado no moinho de facas; c) Pó vegetal do bulbo do alho (*A. sativum* L.).



Fonte: autor (2021)

O material vegetal triturado na forma de pó secos foram expostos ao solvente orgânico (etanol) para a extração dos metabólitos secundários de cada planta. Foram colocados 70g de pó de *A. sativum* em garrafas de vidro âmbar e adicionado 385 mL de etanol 70%, para os demais vegetais utilizou-se 100g de cada pó e esses foram adicionados à 500 mL do mesmo solvente. As misturas foram mantidas em repouso durante 5 dias, sendo agitadas diariamente. Decorrido esse tempo os extratos foram filtrados e transportados ao rotoevaporador na temperatura de 40 °C, para que as substâncias ficassem concentradas, para a realização de diluições e preparo de concentrações como tratamentos (Figura 4).

Figura 4 - a) Processo de filtragem das tinturas botânicas; b) Extrato da raiz de Gengibre (*Zingiber officinale*) no rotoevaporador



Fonte: autor (2021)

2.4.1 Rendimento do material vegetal e dos extratos

Durante a elaboração dos extratos vegetais foi realizado o cálculo de rendimento da secagem até o extrato vegetal resultante das espécies, exceto a *P. nigrum*, que foi adquirida desidratada. Para o cálculo de rendimento dos extratos secos foi usada a seguinte fórmula utilizada por Rodrigues et al (2011) $Re = (P_{ext} / P_{folhas}) \times 100$. Onde: Re = Rendimento total do extrato (%); P_{ext} = Peso do extrato seco (g); P_{folhas} = Peso das folhas frescas ou secas (g).

2.3 MONTAGEM DO BIOENSAIO

O bioensaio se deu a partir de um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com um esquema fatorial 4x3, sendo o Fator 1 composto por quatro níveis: os extratos bulbo do alho (*A. sativum*), a raiz do gengibre (*Z. officinale*), o fruto da pimenta (*P. nigrum*) e o tratamento controle (Crescimento fungo puro), o Fator 2 composto com três níveis, as concentrações: 5%, 10% e 15%. O experimento também contou com quatro repetições, totalizando 48 unidades experimentais, individualizadas em placas de *petri*.

Inicialmente foi realizada a confecção do meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar) a qual ainda em estado líquido adicionado às concentrações dos extratos. Em seguida, em capela de fluxo laminar, o meio de cultura com as concentrações foi distribuído em placas de petri, previamente esterilizadas, as quais foram incubadas em BOD sob fotoperíodo de 12 horas à temperatura de 25 °C decorrido os dias de avaliação.

Para a inoculação do fungo, foi feita uma suspensão fúngica com 10 ml de água destilada + uma gota de tween 80, após a agitação foi realizada a contagem de conídios na Câmara de Neubauer, para determinar a quantidade de conídios /ml da suspensão, onde foi feita diluições para chegar a 1×10^2 que foi a concentração utilizada, com isso, foi colocado 100µl no centro de cada placa de *petri* para verificar a inibição, podemos observar a montagem do bioensaio abaixo (Figura 5).

Figura 5 - Montagem do bioensaio



Fonte: autor (2021)

2.4.1 Avaliação do bioensaio

As avaliações foram realizadas com o auxílio de um paquímetro, por meio de medições do diâmetro da colônia fúngica, sendo a primeira medição conduzida após 48 horas da montagem do experimento e se repetiu até que as colônias do tratamento controle alcançassem

seu desenvolvimento máximo, ocupando todo o meio de cultura, de forma que a avaliação perdurou por cinco dias.

2.4.2 Cálculo do Índice de crescimento micelial

Para o cálculo de índice de crescimento micelial (ICM) foi usada a fórmula adaptada por Salgado et al. (2003). No cálculo do ICM são conduzidas avaliações do crescimento micelial do primeiro até o último dia (C1, C2,...,Cn) e número do dia da avaliação (N1, N2,...,Nn) (Equação 1).

$$IMC = \frac{C1}{N1} + \frac{C2}{N2} + \dots + \frac{Cn}{Nn}$$

Equação 1 - Equação do Índice de Crescimento Micelial

2.4.3 Cálculo da porcentagem de inibição micelial

Para o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi usada a fórmula proposta por GARCIA et al., (2012), onde o diâmetro da testemunha (DT) e o diâmetro do tratamento (DTRAT) são as variáveis colocadas no cálculo (Equação 2).

$$PIC = \frac{DT - DTRAT}{DT} \times 10$$

Equação 2 - Equação da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial

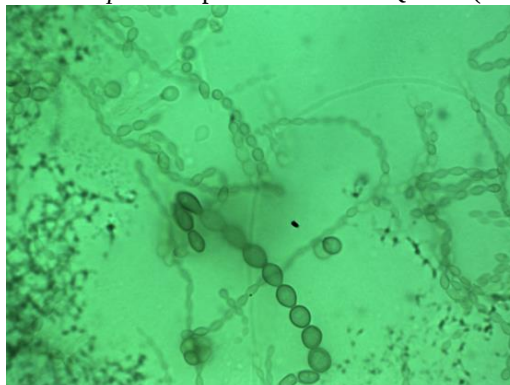
Para a análise estatística, os resultados foram submetidos ao Teste de Tukey, a nível de 5 % de probabilidade com o recurso do programa Assistat - Assistência Estatística versão 7.7 pt, desenvolvido pelo Prof. Dr. Francisco de A. S. e Silva da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Brasil.

3 APRESENTAÇÃO DOS DADOS COLETADOS

A identificação do fungo coletado da porção foliar do *A. esculentus*, se deu com auxílio de um microscópio óptico baseado em pesquisas em bancos de dados de imagens e trabalhos de identificação fúngica anteriores. O mesmo foi classificado como do gênero *Cladosporium*,

por apresentar características semelhantes às encontradas por Bensch *et al.* (2018), quando realizaram um levantamento sobre esse gênero (Figura 2).

Figura 2- Visualização do *Cladosporium* sp. encontrado no Quiabo (*A. esculentus*).



Fonte: Autores (2021)

Esse gênero abrange mais de 772 nomes, das quais apenas 218 foram reconhecidas como verdadeiras espécies de *Cladosporium*. Possuindo uma grande variabilidade no tamanho dos conídios, forma, pigmentação, bem como na morfologia e tamanho dos conidióforos da espécie em particular. Muitas das suas espécies são cosmopolitas, estando em vários locais, atuando na decomposição e deterioração. Fazendo-se agentes causadores de manchas foliares e outras lesões em plantas doentes, muitas vezes, de alto impacto ambiental, sendo esse gênero bastante pesquisado (BENSCH *et al.* 2012).

Quanto ao rendimento dos extratos, a espécie que se destacou em relação a porcentagem de rendimento foi o *A. sativum* com 48,27 %, seguido da *Piper nigrum* 47,42, % e *Z. officinale* com 36,83 % de rendimento (Tabela 1).

Tabela 1 – Rendimento de Extratos vegetais hidroetanólicos (%) de *Z. officinale*, *A. sativum* e *P. nigrum*

Vegetais	Pó vegetal (g)	Extrato Resultante (g)	Rendimento (%)
<i>Z. officinale</i>	100,00	36,83	36,83
<i>A. sativum</i> L.	70,00	33,79	48,27
<i>P. nigrum</i>	100,00	47,42	47,42

Na tabela 1, pode ser observado o rendimento dos vegetais utilizados na pesquisa que foram extraídos com etanol 70% por meio da técnica de maceração. Relativo ao método de extração, pesquisas como a de Santos (2022) que averiguou os rendimentos de extratos obtidos da casca do *A. sativum* também evidenciou que a utilização da técnica de maceração por meio de etanol, como solvente, potencializa a extração dos compostos existentes na casca da espécie

vegetal, indicando também que, tanto o solvente usado, quanto o método de extração tem interferência no rendimento final de extratos vegetais.

Existem uma variedade de maneiras de extrair compostos vegetais que se utilizem solventes orgânicos ou água, sendo que o método mais apropriado deve levar em consideração as características do material e o solvente usado. O rendimento da extração está ligado com as interações entre o material extraído e o solvente, componentes polares apresentam maior afinidade com solventes polares, enquanto os apolares são mais atraídos por solventes de mesma natureza. O que vai interferir diretamente no rendimento, desse modo, é necessário pesquisas referentes às formas de extração, para se ter noção da quantidade de materiais usados para a produção de extratos e a sua interação com o solvente (MARTINS, 2017; MAFALDA, 2017). Desse modo, os resultados obtidos de rendimento podem servir como base para outras pesquisas com o intuito de realizar rendimento.

Na tabela 2, podem ser observados os resultados referentes ao ICM, PIC, do *Cladosporium* sp tratado com os extratos hidroetanólicos das espécies *A. sativum*, *P. nigrum* e *Z. officinale*. Com base nos resultados obtidos, foi possível notar a redução no ICM em todas as concentrações dos extratos testados, se comparado com o controle. Dentre os extratos o maior destaque foi o *A. sativum* que apresentou 3,20 % na concentração de 15% e 5,56 na concentração de 10%, evidenciando sua toxicidade sobre o *Cladosporium* sp.

Tabela 2 – Efeito do extrato vegetal e das concentrações na redução do Índice de Crescimento Micelial (ICM) e a Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC) de *Cladosporium* sp.

Extratos/Concentrações	ICM			PIC %		
	5%	10%	15%	5%	10%	15%
<i>A. sativum</i> L	54,70	5,56	3,20	46,06	86,65	94,82
<i>P. nigrum</i>	49,03	28,62	28,04	59,64	81,86	85,55
<i>Z. officinale</i>	43,50	41,38	81,47	62,98	72,79	71,83
Controle	98,00					

Ação inibitória provocada pelo *A. sativum* sobre *Cladosporium* também foi observada por Domingos et al. (2021), com o extrato aquoso na concentração padronizada de 10 %.

Em relação a porcentagem de inibição do crescimento micelial PIC, é observado que houve uma maior porcentagem de inibição do *A. sativum* nas concentrações de 10% e 15% sendo a inibição de 86,65% e 94,82% respectivamente, assim como nas concentrações do extrato de *P. nigrum* 81,86% e 85,55.

Outras pesquisas realizadas com extrato podem servir de embasamento para corroborar com os resultados aqui encontrados, por exemplo a pesquisa de Costa (2017) que verificou a

atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico de *Allium sativum* sobre *Bipolaris* spp., *Curvularia lunata* e *Fusarium subglutinans*, com destaque para os fungos *Curvularia lunata* e *Fusarium subglutinans* nas concentrações de 40 a 50%. Os resultados encontrados nessa pesquisa, deixa claro a alta eficácia do *A. sativum* sobre *Cladosporium* sp., levando em consideração os resultados positivos do extrato sobre o fungo em concentração de 15%

Com base na resposta estatística, foi observado diferença entre os extratos vegetais sobre o crescimento micelial fúngico do fitopatógeno usado. Com destaque para os extratos de *A. sativum* e *P. nigrum*, 20,77 e 20,91 respectivamente, seguido do extrato de *Z. officinale* com 26,48, quando comparados ao tratamento controle, que apresentou 85,99 para o desenvolvimento do fungo (Tabela 3).

Tabela 3 – Inibição do crescimento da colônia de *Cladosporium* sp. tratado com extratos vegetais hidroetanólicos

Extrato	Crescimento micelial	±DP
<i>Allium sativum</i>	20,77 ^c	± 20,44
<i>Piper nigrum</i>	20,91 ^c	± 10,49
<i>Zingiber officinale</i>	26,48 ^b	± 4,20
Controle	85,99 ^a	± 2,54
CV%	11,50	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey o nível de 5% de probabilidade

A inibição provocada pelos extratos inclui essas espécies como potenciais inibidores de microrganismos. Várias espécies de plantas do gênero piper são utilizadas e apontadas por seu potencial fungitóxico. Como relatado por Bastos et al. (2018), que avaliando esse gênero, verificaram que de 101 extratos avaliados 26 demonstraram eficiência na inibição do crescimento micelial do fungo *Rhizoctonia solani*. Sagi (2018) também evidenciou o potencial fungicida desse gênero ao utilizá-las em sua pesquisa. O mesmo ocorre para o *Z. officinale*, *A. sativum*, levando em consideração De Almeida (2017) ao avaliar o potencial antifúngico de extratos vegetais dessas espécies.

Para a inibição do extrato vegetal de *P. nigrum*, pode estar atrelada a substância Piperina, que já vem sendo pesquisada por vários anos, como aborda Ferreira et al. (2012) em sua pesquisa, esse composto possuindo atividades biológicas antifúngicas e bactericida. Em relação a inibição do extrato vegetal do alho seria pela ação de seus metabólitos secundários, taninos, alcalóides, cumarinas e flavonóides, os quais podem estar relacionados à atividade antimicrobiana, onde a sua maior concentração de compostos estão em seus bulbos (DE MEDEIROS et al., 2018). Esse mesmo autor aponta a possibilidade da inibição ser de grande

parte da substância alicina, já que ao ser retirada, a ação antimicrobiana diminui, principalmente a ação fúngica.

Quanto ao extrato de *Z. officinale*, Andrade et. al (2021) evidenciou taninos encontrados no extrato vegetal aquoso dessa espécie, que pode ser um possível inibitório de microrganismo, já que os taninos possuem ação antimicrobiana (COSTA, 2016).

Na tabela 4, podem ser verificadas as médias do diâmetro do crescimento micelial de *Cladosporium* sp. submetido às diferentes concentrações dos extratos vegetais, de forma que as maiores concentrações 10% e 15% se mostraram mais eficientes em relação ao crescimento micelial do fitopatógeno.

Tabela 4 – Ação fungitóxica de extratos vegetais hidroetanólicos em diferentes concentrações sobre *Cladosporium* sp

Extratos vegetais/Concentrações	Crescimento micelial		
	5%	10%	15%
<i>A. sativum</i>	46,38 ^{bA}	11,48 ^{cB}	4,45 ^{cB}
<i>Piper nigrum</i>	34,71 ^{cA}	15,59 ^{bcB}	12,42 ^{cB}
<i>Zingiber officinale</i>	31,83 ^{cA}	23,40 ^{bB}	24,22 ^{bAB}
Controle	85,99 ^{aA}	85,99 ^{aA}	85,99 ^{aA}
CV%	11,50		

As médias seguidas de mesma letra minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Visto que as concentrações 10% e 15% se sobressaíram e não diferiram estatisticamente, seria acertado apontar a concentração de 10% de extrato vegetal, para o controle desse fungo. Com relação à interação dos fatores extratos e concentrações pôde-se verificar que o extrato de *A. sativum* L., *P. nigrum* e *Z. officinalis* nas concentrações 10% e 15 % se destacaram quanto à inibição do crescimento do *Cladosporium* sp. assim como o extrato de alho em relação aos demais (Tabela 5).

Sangi (2018) em sua pesquisa avaliou o potencial de controle de espécies do gênero *Piper* sobre os fungos fitopatogênicos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*, tendo resultado positivo no experimento, já que, nos testes in vitro com os fungos, vinte e seis extratos apresentaram halos de inibição à *R. solani* e dez à *S. rolfsii*. Dentre estes, os extratos alcoólicos de talo, preparados com material vegetal secos de *Piper permucronatum* e *Piper carniconnectivum*, foram os que apresentaram melhores resultados para *R. solani*, e o extrato aquoso de *P. tuberculatum* também preparados com materiais vegetais secos, foram os que melhor inibiram o fungo *S. rolfsii*.

Assim como, a pesquisa de Almeida (2017), que avaliou o potencial antifúngico das espécies medicinais vegetais de *Z. officinale*, *A. sativum* e *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo-da-índia) in vitro e in vivo, para o controle do patógeno *Alternaria solani*, tendo bons resultados indicando que as espécies vegetais avaliadas tem potencial inibidor no controle da pinta preta do tomateiro, com destaque para o extrato de cravo-da-índia.

A biodiversidade de espécies vegetais com moléculas químicas é bastante vasta, tanto para o emprego na área terapêutica, assim como, para o uso no controle de pragas e doenças de plantas na agricultura (COSTA, 2017) uma das alternativas é a utilização de extratos vegetais, que a partir dos metabólicos existentes nas plantas, podem ter atividades fungitoxicas no controle de microrganismos.

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas com base em extratos de plantas e seus metabólitos secundários, visando o controle alternativo de fungos fitopatogênicos. O uso desses produtos é uma alternativa vantajosa para proteção de plantas, se comparado com fungicidas sintéticos, são compostos que os patógenos possuem menos capacidade de inativa-los, são menos tóxicos e possuem rápida degradação no ambiente, ou seja, não sendo residuais (KOBAYASHI et al., 2018).

Tendo em vista os aspectos observados em relação ao que foi exposto, faz-se necessário uma maior abrangência em relação a pesquisa, já que existe uma grande biodiversidade que pode ser estudada com cautela, dessa forma, diminuir danos ambientais devido a redução agroquímicos sintéticos que podem desequilibrar o ambiente, assim como também, a grande variedade de espécies para a elaboração de extratos vegetais, quanto microorganismos causadores de enfermidades que podem ser alternativas para futuros testes.

4 CONCLUSÃO

Nas condições testadas todos os extratos apresentam bioatividade sobre o fungo fitopatogênico *Cladosporium* sp. Destacando-se extrato de *A. sativum* em relação ao seu potencial fungitóxico, inibindo o crescimento da colônia do fungo de forma mais eficiente, com maior eficácia em concentrações de 10 e 15%.

REFERÊNCIAS

- BASEGGIO, E. R., REIK, G. G. PIOVESAN, B., MILANESI, P. M., *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais no controle de patógenos e tratamento de sementes de trigo. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 1, p. 22-33, 2019.
- BASTOS, J. S. F. FERNANDES, C. de F. VIEIRA JUNIOR, J. R. Potencial de controle de espécies de *Piper* sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.8, p.260-272, 2018.
- BENSCH, K., GROENEWALD, JZ, MEIJER, M., DIJKSTERHUIS, J. *et al.* Cladosporium species in indoor environments. **Studies in Mycology** 89: 177–301 (2018)
- BENSCH, K., BRAUN, U., GROENEWALD, J. Z., CROUS, P. W The genus Cladosporium. **Studies in Mycology** 72: 1–401 (2012)
- BERNARDO, R., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F, STANGARLIN, J.R., OLIVEIRA, J. S. B CRUZ, M. E. S., MESQUINI, R. M. *et al.* Atividade fungitóxica in vitro de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 2, p. 89-93, 2015.
- BORLINGHAUS, J., ALBRECHT, F., GRUHLKE, M. C. H.,NWACHUKWU, I. D., SLUSARENKO, A. J. Allicin: chemistry and biological properties. **Molecules**, v. 19, n. 8, pág. 125-126, 2014.
- BRUM, R. B. C. S., CASTRO H. G., CARDON, C. H., PEREIRA, A. S. D. P. C. SANTOS, G. R. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos. **Magistra**, v. 26, n. 3, p. 361-371, 2014.
- CARNEVALLI, D. B., ARAÚJO, A. P. S. Atividade Biológica da Pimenta Preta (*Piper nigrum* L.): revisão de literatura. **Uniciências**, v. 17, n. 1, 2013.
- CAROLLO, E. M.; SANTOS FILHO, H. P. Manual básico de técnicas fitopatológicas: laboratório de fitopatologia Embrapa Mandioca e Fruticultura. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Folder/Folheto/Cartilha (**INFOTECA-E**), 2016.
- CAVALLITO, C. J., BAILEY, J. H. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum* – I. Isolation, physical properties and antibacterial action. **Journal of the American Chemical Society**, 66 (11), p. 1950-1951, 1944.
- CORRÊA, L.; NUNES P., R. S.; PINHEIRO, L. M. C.; NETTO, C. G.; SILVA, C. S. Ação antifúngica do extrato de gengibre no controle in vitro de fungos do morangueiro. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 6, n. 2, 14 fev. 2020.
- COSTA, N. C., JÚNIOR, A. F. C., RAMOS, A. C. C., SOARES, L. P., SCHEIDT, G. N. Atividade antimicrobiana e análise fitoquímica preliminar do extrato vegetal de alho no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, n. 1, p. 161-166, 2017.

COSTA, N. S. Universidade federal da paraíba, dezembro de 2011. **Eficiência de extratos vegetais no controle de cupins *Nasutitermes* sp. (ISOPTERA – TERMITIDAE)** 2011.

DE ALMEIDA, E., N., MOURA, G. S., FRANZENER, G. Potenciais alternativas com extratos vegetais no controle da pinta preta do tomateiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, n. 4, p. 687-694, 2017.

DE MEDEIROS F, A., L.; MEDEIROS, I. L.; DE MEDEIROS, F. D.. *Allium Sativum*: uma nova abordagem frente a resistência microbiana-uma revisão. **Revista Brasileira de Saúde** , v. 1, n. 1, pág. 201-207, 2018.

DOBHAL, P., SRIVASTAVA, S., SAHA, S., & KUNDU, S. Role of botanical plant extracts to control plant pathogens - A review. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 52, n. 4, p. 341-346, 2018.

FERREIRA, W. S., FRANKLIM, T. N., LOPES, N. D., & DE LIMA, M. E. Piperine, its Analogues and Derivatives: Potencial as Antiparasitic Drugs. **Revista Virtual de Química**. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). [s.l.], v. 4, n. 3, p.208-224, jul. 2012.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade an-tifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

KALHORO, MT, ZHANG, H., KALHORO, GM, WANG, F., CHEN, T., FAQIR, Y., & NABI, F. Fungicidal properties of ginger (*Zingiber officinale*) essential oils against *Phytophthora colocasiae*. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2022.

KIM, D. W., JUNG, T. S., NAM, S. H., KWON, H., KIM, A., CHAE . et al. GarlicESTdb: an online database andmining tool for garlic EST sequences. **BMC Plant Biology**, v. 61, n. 9, p. 1187-1471, Mai. 2009.

KUTAWA, A. B.; DANLADI, M. D.; HARUNA, A. Regular article antifungal activity of garlic (*Allium sativum*) extract on some selected fungi. **J. Med. Herbs Ethnomed**, v. 4, p. 12-14, 2018.

LEMOS, M. N. C., SILVA, P. M.; A, ALVES, J. P. Produção de gengibre (*zingiber officinale roscoe*) cristalizado e avaliações de propriedades físico-químicas e microbiológicas. (**Monografia**) 19 p. 2021.

MAFALDA, M. F. V. Rendimento e ação fungitóxica dos extratos de folhas e cascas da *Guazuma ulmifolia*.2017.47f. (**Dissertação**) (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais, Gurupi, 2017.

MAHBOUBI, M. *Zingiber officinale* Rosc. essential oil, a review on its composition and bioactivity. **Clinical Phytoscience**, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2019.

MARTINS, S. Q. Estudos de rendimento e de atividade antioxidante de extratos de calêndula via processo de extração por solvente. (**Monografia**) Bacharelado em Engenharia Química, oferecido, Federal Fluminense, Niterói-RJ, 61 p. 2017.

MUÑOZ CASTELLANOS, L., AMAYA OLIVAS, N., AYALA-SOTO, J, DE LA OS, L. *et al.*. In vitro and in vivo antifungal activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) and pepper (*Piper nigrum* L.) essential oils and functional extracts against *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus niger* in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **International Journal of Microbiology**, v. 2020.

OLIVEIRA, I. N. ; TELE, A. SANTOS, G. C.; SABOIA, C. S. ; SANTOS, B. A; CARDOSO, T. D.; MOUCHREK, A.N. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais no descongelamento de peixes isolados. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, [S. l.], v. 9, n. 9, 2020.

SALGADO, A.P.S.P.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; SOUZA, J.A.; ABREU, C.M.P.; PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de Eucalyptus sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolares sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.2, p.249-254, mar./abr. 2003.

SANGI, S. C.; VIEIRA J. J. R.; FERNANDES, C. F.; BASTOS, J. S. F.; FONSECA, A. S.; FREIRE, T. C. et al. Extratos de Piper no controle alternativo de fitonematoides do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.8, p.212-223, 2018.

SANTOS, P. C. M.. Propriedades antioxidante, antimicrobiana e toxicidade do extrato da casca do alho (*Allium sativum* L.). 2022. 61 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022

SILVA, RN, MONTEIRO, VN, STEINDORFF, AS, GOMES, EV, NORONHA, E.F. Trichoderma/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. **Fungal biology**, v. 123, n. 8, p. 565-583, 2019.

SOUZA ELLER, S. C. W., FEITOSA, V. A., ARRUDA, T. A., ANTUNES, R. M. P., CATÃO R. M. R.. Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica in vitro. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 1, 2015.

YEH, H.Y., CHUANG, C.H., CHEN, H.C.,Wan, C.J.,Chen, T.L.,Lin, L.Y.,. Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. **LWT -Food Science and Technology**, 55, 329-334.2014

ZHANG, C., ZHAO, J., FAMOUS, E., PAN, S., PENG, X. Antioxidant, hepatoprotective and antifungal activities of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Food Chemistry**, v. 346, p. 128845, 2021.