

Rendimento e ação inibitória de extratos vegetais sobre fungos fitopatogênicos

Nadiane França da Silva^{1,*}, Natanaelma Silva da Costa², Adelmo Ferreira Silva³, Letícia Waléria Oliveira dos Santos⁴, Matheus Eduardo Silva de Mello¹, Joseliane Fernandes Miguel dos Santos⁵, Luís Felipe de Araújo⁶ e Marcos Barros de Medeiros⁷

¹Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias. Curso de Bacharelado em Agroecologia. *Campus III*. João Pessoa-PB, Brasil (CEP 58220-000). *E-mail: ndnfranca@gmail.com.

²Universidade Federal da Paraíba. Centro de Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Renorbio). *Campus I*. João Pessoa-PB, Brasil (CEP 58051-900).

³Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias. Curso de Licenciatura em Ciências Agrárias. *Campus III*. Cidade Universitária. Bananeiras-PB, Brasil (CEP 58220-000).

⁴Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. *Campus II*. Cidade Universitária. Areia-PB, Brasil (CEP 58397-000).

⁵Universidade Federal de Alagoas. Programa de Pós Graduação em Agricultura e Ambiente (PPGAA). *Campus Arapiraca*. Av. Manoel Severino Barbosa, S/Nº. Bom Sucesso. Arapiraca-AL, Brasil (CEP 57309-005).

⁶Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias. Departamento de Educação. *Campus III*. Cidade Universitária. Bananeiras-PB, Brasil (CEP 58220-000).

⁷Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias. Departamento de Agricultura. *Campus III*. Cidade Universitária. Bananeiras-PB, Brasil (CEP 58220-000).

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 fungos fitopatogênicos in

Recebido
05/06/2022

Aceito
26/08/2022

Publicado
31/08/2022

 Acesso aberto

vitro. 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 deram-se 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% em água purificada. 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 L, no centro da placa, contendo 1×10^2 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 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 IMC, 5,56, na concentração de 10%, e de 3,20, na concentração 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. 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. *Yield and inhibitory action of plant extracts on phytopathogenic fungi.* The presence of phytopathogenic fungi in agriculture affects productivity and causes significant economic losses. The control of these microorganisms is commonly carried out through chemical agents, however, even in view of their efficiency, these products are considered contaminants of soil, air, water, and can also compromise the health of handlers. With this, the demand for the development of sustainable alternatives to control these biological agents is established. In this scenario, plants and their secondary metabolites emerge as a prominent alternative due to their



ORCID

- ID 0000-0002-5269-6850 Nadiane França da Silva
- ID 0000-0002-5747-6507 Natanaelma Silva da Costa
- ID 0000-0002-3946-2849 Adelmo Ferreira Silva
- ID 0000-0003-1814-1322 Letícia Waléria Oliveira dos Santos
- ID 0000-0002-5203-5868 Matheus Eduardo Silva de Mello
- ID 0000-0002-5453-5276 Joseliane Fernandes Miguel dos Santos
- ID 0000-0001-7155-1932 Luís Felipe de Araújo
- ID 0000-0002-1633-3227 Marcos Barros de Medeiros

fungitoxic potential. Based on this assumption, the objective was to evaluate the yield and potential toxicity of hydroethanolic plant extracts on phytopathogenic fungi *in vitro*. To carry out the research, the phytopathogenic fungus *Cladosporium* sp. was collected from okra (*Abelmoschus esculentus*) plants. The establishment of the fungal culture and subsequent isolation, identification and inhibition test took place at the Microbiology Laboratory of the Center for Social and Agrarian Sciences (CCHSA) of the Federal University of Paraíba (UFPB). The obtaining of hydroethanolic plant extracts from garlic bulb (*Allium sativum*), ginger root (*Zingiber officinale*) and black pepper fruit (*Piper nigrum*) took place at the Phytosanitary Clinic of CCHSA-UFPB, behind the maceration method using 70% ethanol as solvent. The inhibition test was organized in a completely randomized design with a 4x3 factorial scheme, with Factor 1 being the three plant extracts tested: *A. sativum*, *Z. officinale*, *P. nigrum*, and Factor 2 being the four concentrations: 0.0 (control), 5%, 10%, and 15%. For the inhibition test, plant extracts were added, at different concentrations, to the PDA medium and after plating and cooling, a 100 µL suspension was inoculated in the center of the plate, containing 1×10^2 spores of *Cladosporium* sp./mL, allowing direct exposure of the fungus to the extracts. The evaluation was carried out from the evaluation of the diameter of the established fungal colonies. The mycelial growth index (MGI) and the percentage of mycelial inhibition (PMI) were calculated. The yields obtained from the production of hydroethanolic plant extracts of *A. sativum*, *Z. officinale* and *P. nigrum* were, respectively, 48.27%, 36.83% and 47.42%, highlighting the plant extract of *A. sativum* with the highest yield. All plant extracts showed toxicity against *Cladosporium* sp. The *A. sativum* extract also stood out with the lowest ICM, 5.56, at 10% concentration, and 3.20, at 15%, and the highest PIC, 86.65% and 94.82%, at concentrations of 10% and 15%, respectively, presenting the extract with the highest toxicity to *Cladosporium* sp. when compared to the other extracts. Plant extracts can be considered a potential alternative for the control of phytopathogenic fungi such as *Cladosporium* sp.

Keywords: Phytopathology; Botanical extracts; Phytosanitary control.

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 agrotóxicos, que podem causar danos ao meio ambiente, podendo afetar o equilíbrio do agroecossistema. Dessa forma, faz-se 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 (Bastos et al., 2018; Choudhury et al., 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. Dessa maneira, os extratos vegetais vêm sendo uma alternativa para produtores que buscam produtos e tecnologias para viabilizar uma produção sustentável, minimizando o uso de fungicidas químicos (Bernardo et al., 2015; Souza Eller et al., 2015; Baseggio et al., 2019).

Algumas plantas, como o alho (*Allium sativum*), a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) e o gengibre (*Zingiber officinale*) podem apresentar em sua composição compostos bioativos de interesse para estudos quanto a sua fungitoxicidade. 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 e Araújo, 2013). A raiz de *Z. officinale* vem demonstrando como alternativa terapêutica antimicrobiana (Aragão 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).

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 et al., 2018; Mahboubi, 2019; Muñoz Castellanos et al., 2020; Zhang et al., 2021; Kalhoro et al., 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 a potencial toxicidade de extratos vegetais hidroetanólicos sobre fungos fitopatogênicos *in vitro*.

Material e métodos

Local de desenvolvimento do estudo

A pesquisa foi realizada no Laboratório Clínica Fitossanitária do Departamento 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.

Coleta isolamento e identificação do fungo

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*.

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 min, passou-se para outra com hipoclorito de sódio a 0,5% por 2 min, posteriormente os fragmentos foram higienizados com água destilada estéril por três vezes. Em seguida, 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 e Dextrose), seguindo a metodologia de Carollo e Santos Filho (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.

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 coração com uma gota de azul de metileno, a identificação visual foi realizada a partir da comparação da imagem obtida no microscópio, com as presentes na literatura e banco de dados.

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 três 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 a 2% por 15 min. Após a retirada do material da solução sanitizante, o alho e o gengibre foram particionados em pequenos pedaços para facilitar o processo de desidratação.

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 h, após a secagem o material foi processado no moinho de facas.

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

Rendimento do material vegetal e extrato

Para o cálculo de rendimento dos extratos secos foi usada a fórmula (Equação 1) utilizada por Rodrigues et al. (2011):

$$Re = (P_{ext}/P_{folhas}) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

Re = Rendimento total do extrato (%);

P_{ext} = Peso do extrato seco (g); e

P_{folhas} = Peso das folhas frescas ou secas (g).

Sendo usado para o cálculo do material vegetal antes dos procedimentos e o depois para obter o seu rendimento.

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, 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) que ainda em estado líquido, as concentrações dos extratos foram incorporadas, após, foi transportado para a capela de fluxo laminar, onde o meio de cultura com as concentrações foram distribuídos em placas de Petri, previamente esterilizadas e foram incubadas em BOD sob fotoperíodo de 12 h 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 100 μ L no centro de cada placa de Petri para verificar a inibição.

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 h

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.

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 2).

$$IMC = \frac{C1}{N1} + \frac{C2}{N2} + \dots + \frac{Cn}{Nn} \quad \text{Equação 2}$$

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 3):

$$PIC = \frac{DT - DTRAT}{DT} \times 10 \quad \text{Equação 3}$$

Resultados e discussão

Referente à identificação do fungo coletado da porção foliar do *A. esculentus*. Foram realizadas pesquisas em bancos de dados de imagens e trabalhos de identificação fúngica anteriores. Em uma pesquisa de Bensch et al. (2018), realizou-se um levantamento de fungos do gênero *Cladosporium*, e com base nas características encontradas por meio da visualização no microscópio óptico, o que mais se aproximou das características das amostras coletadas foi esse gênero, sobre o qual foram testados os extratos vegetais (Figura 2).

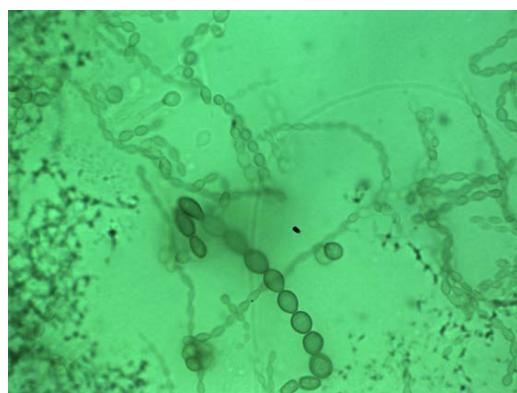


Figura 2. Visualização do *Cladosporium* sp. encontrado no quiabo (*A. esculentus*).

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).

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. A espécie que se destacou em relação à porcentagem de rendimento foi *A. sativum*, com 48,27%, tendo a *Piper nigrum* apresentado 47,42% e, por último, *Z. officinale* com 36,83% (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>	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.

Existe uma variedade de maneiras de extraír 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 (Mafalda, 2017; Martins, 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, que seria o de crescimento do micélio do microrganismo utilizado e o PIC, sendo a porcentagem da inibição do *Cladosporium* sp. tratado com os extratos hidroetanólicos das espécies *A. sativum*, *P. nigrum* e *Z. officinale*.

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>	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		

Com base nos resultados obtidos, foi possível notar a redução no ICM em todas as concentrações dos extratos testados, se comparado com o controle. O que denota indícios importantes da bioatividade fungitóxicas destas espécies vegetais sobre fungos fitopatogênicos. 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. Domingos et al. (2021) utilizando o extrato aquoso também evidenciaram maior índice de inibição da espécie *A. sativum* na concentração padronizada de 10%, se comparada com outras espécies utilizadas em sua pesquisa.

Em relação à porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), é observado que houve uma maior porcentagem de inibição do *A. sativum* na concentração de 10% e 15%, sendo a inibição de 86,65% e 94,82%, respectivamente, assim como nas concentrações de *Piper nigrum* teve uma boa porcentagem de inibição de 81,86% e 85,55%.

Outras pesquisas realizadas com extrato podem servir de embasamento para corroborar com os resultados aqui encontrados. Por exemplo, Costa et al. (2017) que verificou a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Allium sativum* contra *Bipolaris* spp., *Curvularia lunata* e *Fusarium subglutinans*, obtendo resultados satisfatórios, comprovando a atividade antimicrobiana sobre todos os fungos fitopatogênicos testados, com destaque *Curvularia lunata* e *Fusarium subglutinans*, nas concentrações de 40% a 50%. A pesquisa aqui tratada pode ser verificado que na concentração de 15% foram obtidos resultados positivos no fungo *Cladosporium* sp.

Com base nos dados estatísticos, pode-se constatar grande diferença da utilização dos extratos vegetais no crescimento micelial fúngico do fitopatógeno usado, em que não houve tanto crescimento no meio de cultura contendo *A. sativum* e *P. nigrum*, 20,77% e 20,91%, respectivamente, assim como menos expressivo, mas com resultado positivo, *Z. officinale* com 26,48%, neste caso, se comparado o controle, onde ocorreu um grande desenvolvimento fúngico de 85,99%, mostrando o efeito dessas espécies como potenciais inibidores de microrganismos (Tabela 3). Uma variedade de plantas do gênero *Piper* foi utilizada e apontado seu potencial fungitóxico. Bastos et al. (2018) constataram que de 101 extratos avaliados desse gênero, 26 demonstraram eficiência na inibição do crescimento micelial do fungo *Rhizoctonia solani*. Outro exemplo foi Sangi et al. (2018) que utilizou plantas do gênero *Piper* e atestou seu potencial fungicida, evidenciando o seu potencial inibitório. Almeida et al. (2017), ao avaliar o potencial antifúngico de extratos vegetais das espécies medicinais *Z. officinale* e *Allium sativum*, obteve resultados satisfatórios.

Tabela 3. Inibição do crescimento micelial 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 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 (Felix et al., 2018). Felix et al. (2018) apontam a possibilidade da inibição ser de grande parte da substância alicina, já que ao ser retirada, a ação antimicrobiana diminui, principalmente a ação fúngica.

Para a inibição do extrato vegetal de *P. nigrum*, pode estar atrelada à substância piperina, que já vem sendo pesquisada por vários anos, como mencionam Ferreira et al. (2012), esse composto possui atividades biológicas antifúngicas e bactericida. Andrade et al. (2021) evidenciaram taninos encontrados no extrato vegetal aquoso de *Z. officinale*, podendo ser um possível inibitório de microrganismo, já que os taninos possuem ação antimicrobiana (Costa, 2011).

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% mostraram-se mais eficientes em relação ao crescimento micelial do fitopatógeno.

Tabela 4. Inibição do crescimento micelial de *Cladosporium* sp submetido à diferentes concentrações de extratos vegetais.

Concentração	Crescimento micelial	±DP
5%	49,72 ^a	± 22,54
10%	34,11 ^b	± 31,57
15%	31,77 ^b	± 33,41
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

Visto que as concentrações 10% e 15% 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*, *P. nigrum* e *Z. officinalis* nas concentrações 10% e 15% destacaram-se quanto à inibição do crescimento do *Cladosporium* sp. Podendo ser destacado o extrato de *A. sativum*, que apresentou o maior potencial de inibição fúngica (Tabela 5).

Tabela 5. Ação fungitóxica de extratos vegetais hidroetanólicos em diferentes concentrações sobre *Cladosporium* sp.

Extratos vegetais	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 ^{bcbB}	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 pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey o nível de 5% de probabilidade.

Oliveira et al. (2020) buscaram avaliar a concentração mínima de inibição de três extratos vegetais de *Origanum vulgare* (orégano), *Curcuma longa* (cúrcuma) e *Z. officinale*

e que demonstraram alta sensibilidade aos isolados bacterianos, desse modo, os mesmos sendo indicados para uso na indústria farmacêutica, alimentar, assim como, na agrícola.

Sangi et al. (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, já que, nos testes *in vitro* com os fungos, 26 extratos apresentaram halos de inibição a *R. solani* e 10 a *S. rolfsii*. Dentre estes, os extratos alcoólicos do 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*.

Almeida et al. (2017), 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 encontrado 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, como para o uso no controle de pragas e doenças de plantas na agricultura (Costa et al., 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 ao controle alternativo de fungos fitopatogênicos. O uso desses produtos é uma alternativa vantajosa para proteção de plantas, se comparado com fungicidas sintéticos, uma vez que são compostos que os patógenos possuem menos capacidade de inativar, são menos tóxicos e possuem rápida degradação no ambiente, ou seja, não sendo resíduais (Kobayashi e Amaral, 2018).

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

Conclusão

Os extratos vegetais, nas condições realizadas, apresentaram bioatividade sobre o fungo fitopatogênico *Cladosporium* sp. O extrato de *Allium sativum* destacou-se dos demais em relação ao seu potencial fungitóxico, inibindo o crescimento da colônia do fungo em quase 100% nas concentrações utilizadas. De forma que esses vegetais apresentam considerável efeito fungicida, podendo assim ser utilizados como método de controle alternativo de fungos.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

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.

Aragão, J. P. A.; Silva, P. M.; Lemos, M. N. C. **Produção de gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) cristalizado e avaliações de propriedades físico-químicas e microbiológicas.** Caruaru: Instituto Tabosa de Almeida - ASCES-UNITA, 2021. (Trabalho de conclusão de curso de graduação).

Baseggio, E. R.; Reik, G. G.; Piovesan, B.; Milanesi, P. M. 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. <https://doi.org/10.30945/rccr-v21i1.309>

Bastos, J. S. F.; Fernandes, C. F.; Vieira Junior, J. R.; Fonseca, A. S.; Freire, T. C.; Sangi, S. C.; Ogrodowczyk, L.; Oliveira, K. C. C.; Rocha, R. B.; Barbieri, F. S. 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.; Braun, U.; Groenewald, J. Z.; Crous, P. W. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology**, v. 72, p. 1-401, 2012. <https://doi.org/10.3114/sim0003>

Bensch, K.; Groenewald, J. Z.; Meijer, M.; Dijksterhuis, J.; Jurjević, Ž.; Andersen, B.; Houbraken, J.; Crous, P. W.; Samson, R. A. *Cladosporium* species in indoor environments. **Studies in Mycology**, v. 89, p. 177-301, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.03.002>

Bernardo, R.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Oliveira, J. S. B.; Cruz, M. E. S.; Mesquini, R. M. 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, p. 12591-12618, 2014. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>

Brum, R. B. C. S.; Castro, H. G.; Cardon, C. H.; Pereira, A. S. D. P. C.; Cardoso, D. P.; 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. **Unicíncias**, v. 17, n. 1, p. 41-46, 2013.

Carollo, E. M.; Santos Filho, H. P. **Manual básico de técnicas fitopatológicas**: laboratório de fitopatologia Embrapa Mandioca e Fruticultura. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 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**, v. 66, n. 11, p. 1950-1951, 1944. <https://doi.org/10.1021/ja01239a048>

Choudhury, D.; 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. <https://doi.org/10.18805/IJARe.A-5005>

Costa, N. C.; Chagas Júnior, A. F.; 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. <https://doi.org/10.18378/rvads.v12i1.4406>

Costa, N. S. **Eficiência de extratos vegetais no controle de cupins *Nasutitermes* sp.** (Isoptera: Termitidae). Bananeiras: Universidade Federal da Paraíba, 2011. (Trabalho de conclusão de curso de graduação).

Domingos, M. M.; Melloni, R.; Ferreira, G. M. R. Extratos vegetais no controle do fungo *Fusarium oxysporum* e seu efeito sobre fungos micorrízicos arbusculares em plantas de milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 16, n. 2, p. 132-142, 2021. <https://doi.org/10.33240/rba.v16i2.23379>

Felix, F. A. L. M.; Medeiros, I. L.; Medeiros, F. D. *Allium sativum*: uma nova abordagem frente à resistência microbiana: uma revisão. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 1, n. 1, p. 201-207, 2018.

Ferreira, W. S.; Franklim, T. N.; Lopes, N. D.; Lima, M. E. Piperina, seus análogos e derivados: potencial como antiparasitários. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 208-224, 2012. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20120018>

Garcia, R. A.; Juliatti, F. C.; Barbosa, K. A. G.; Cassemiro, T. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

Kalhoro, M. T.; Zhang, H.; Kalhoro, G. M.; Wang, F.; Chen, T.; Faqir, Y.; Nabi, F. Fungicidal properties of ginger (*Zingiber officinale*) essential oils against *Phytophthora colocasiae*. **Scientific Reports**, v. 12, 2191, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06321-5>

Kim, D.-W.; Jung, T.-S.; Nam, S.-H.; Kwon, H.-R.; Kim, A.; Chae, S.-H.; Choi, S.-H.; Kim, D.-W.; Kim, R. N.; Park, H.-S. GarlicESTdb: An online database andmining tool for garlic EST sequences. **BMC Plant Biology**, v. 61, n. 9, p. 1187-1471, 2009. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-61>

Kobayashi, B. F.; Amaral, D. R. Efeito de extratos vegetais de plantas do Cerrado para controle de pinta-preta em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 2, p. 189-192, 2018. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2194>

Kutawa, A. B.; Danladi, M. D.; Haruna, A. Antifungal activity of garlic (*Allium sativum*) extract on some selected fungi. **Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine**, v. 4, p. 12-14, 2018. <https://doi.org/10.25081/jmhe.2018.v4.3383>

Mafalda, M. F. V. **Rendimento e ação fungitóxica dos extratos de folhas e cascas da Guazuma ulmifolia**. Gurupi: Universidade Federal do Tocantins, 2017. (Dissertação de mestrado).

Mahboubi, M. *Zingiber officinale* Rosc. essential oil, a review on its composition and bioactivity. **Clinical Phytoscience**, v. 5, 6, 2019. <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0097-4>

Martins, S. Q. **Estudos de rendimento e de atividade antioxidante de extratos de calêndula via processo de extração por solvente**. Niteroi: Universidade Federal Fluminense, 2017. (Monografia de graduação).

Muñoz Castellanos, L.; Amaya Olivas, N.; Ayala-Soto, J.; Contrelas, C. M. O.; Ortega, M. Z.; Salas, F. S.; Hernández-Ochoa, L. *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, Article ID 1702037, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1702037>

Oliveira, I. N.; Teles, A. M.; Santos, G. C.; Saboia, C. S.; Santos, B. A.; Cardoso, D. T.; Mouchrek, A. N. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais sobre bactérias isoladas de degelo de peixe. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, e306997406, 2020. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7406>

Rodrigues, T. S.; Guimarães, S. F.; Rodrigues-das-Dôres, R. G.; Gabriel, J. V. Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. especial, p. 587-590, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000500014>

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**, v. 27, n. 2, p. 249-254, 2003. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542003000200001>

Sangi, S. C.; Vieira J. J. R.; Fernandes, C. F.; Bastos, J. S. F.; Fonseca, A. S.; Freire, T. C.; Ogrodowczyk, L.; Nunes, J. D. K.; Oliveira, K. C. C.; Rocha, R. B.; Barbieri, F. S. Extratos de *Piper* no controle alternativo de fitonematoïdes do gênero *Meloidogyne* em *Coffea canephora*. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 8, p. 212-223, 2018. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.008.0019>

Santos, P. C. M. **Propriedades antioxidante, antimicrobiana e toxicidade do extrato da casca do alho (*Allium sativum* L.)**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2022. (Dissertação de mestrado).

Silva, R. N.; Monteiro, V. N.; Steindorff, A. S.; Gomes, E. V.; Noronha, E. F.; Ulhoa, C. J. Trichoderma/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. **Fungal Biology**, v. 123, n. 8, p. 565-583, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.06.010>

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, p. 131-136, 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**, v. 55, n. 1, p. 329-334, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.003>

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, 128845, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128845>



Informação da Licença: Este é um artigo Open Access distribuído sob os termos da Licença Creative Commons Attribution, que permite uso irrestrito, distribuição e reprodução em qualquer meio, desde que a obra original seja devidamente citada.