

**COLÉGIO ESTADUAL JARDIM PORTO ALEGRE ENSINO FUNDAMENTAL,
MÉDIO E TÉCNICO
CLUBE DE CIÊNCIAS CIENTISTAS DO JARDIM**

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DO FUNGO
Penicillium digitatum EM FRUTOS DE LARANJA**

Toledo-PR

2025



Lara Rauber Goulart

Pollyana Marques

Leandro Marcelo

Miglioretto

Dionéia Schauren

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DO FUNGO
Penicillium digitatum EM FRUTOS DE LARANJA**

Relatório apresentado à 9ª FEMIC - Feira
Mineira de Iniciação Científica.

Orientação do Prof. Dionéia Schauren e
coorientação de Leandro Marcelo Miglioretto.

**Toledo-PR
2025**



RESUMO

O bolor verde (*Penicillium digitatum*) é considerado a principal doença pós-colheita dos citros, principalmente em climas quentes. A infecção pelo patógeno ocorre por meio de ferimentos onde os nutrientes estão disponíveis e estimulam a germinação dos esporos depositados na superfície do fruto. Para o controle doenças como o bolor verde os agricultores fazem uso de agroquímicos, porém esse uso contínuo destes produtos potencializa a resistência deste patógeno aos tratamentos além de causar prejuízos à saúde humana e ao meio ambiente. Este estudo tem como objetivo avaliar o efeito antifúngico de diferentes extratos vegetais no controle do crescimento micelial do fungo *Penicillium digitatum* em condições *in vitro*. Para a escolha inicial das plantas foi-se feito um levantamento do conhecimento popular e em seguida, uma revisão de literatura a fim de avaliar estudos já realizados. Constatando os estudos prévios, escolheu-se as plantas Arruda, Loro, Uva-Do- Japão, Acacia, Eucalipto, Melão De São Caetano, Alfavaca, Cravo, Espatódia, Olho De Boi. Os extratos foram preparados em concentrações de 5g, 10g, 15g e 20g por litro de água, mantidos em um local sem incidência de luz por sete dias e em seguida foram diluídos em meio BDA, na proporção de 180 mL de meio BDA para 20mL de extrato vegetal. O meio foi então autoclavado e despejado em placas de Petri, que também foram devidamente autoclavadas. Após o resfriamento, foi realizado o processo de inoculação do fungo. As placas permaneceram em uma BOD por 7 dias a uma temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Durante este período, foram realizadas 3 avaliações do crescimento micelial do fungo, onde os dados analisados foram utilizados no SISVAR com teste de médias de Scott-Knott a 5% de significância. Muitos dos extratos mostraram-se promissores para a inibição do fungo, *Penicillium digitatum*, entre eles a Uva-do-Japão, Olho de Boi e Melão-São Caetano, com mais de 50% de inibição do desenvolvimento micelial do fungo.

Palavras-chave: Agroquímicos, Bolor verde, Extrato vegetal.



SUMÁRIO

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 JUSTIFICATIVA	6
3.1 Objetivo geral	7
3.2 Objetivos específicos	7
4 METODOLOGIA.....	9
5 RESULTADOS OBTIDOS	14
REFERÊNCIAS.....	17



1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de frutas cítricas, sendo a laranja, a tangerina e a lima-ácida as mais produzidas. Anualmente, cerca de quatro milhões de toneladas de laranja são destinadas ao mercado de fruta in natura, no Brasil. Dentre as laranjas, as variedades Pera e Valência [*C. sinensis* (L.) Osbeck] são as mais cultivadas e destinam-se tanto para indústria de suco concentrado como para o mercado de fruta fresca (Agrianual, 2012).

Os índices de descarte de frutos em pós-colheita são geralmente reflexos da incidência de doenças nessa fase, uma vez que os frutos são desqualificados para comercialização pela presença dos sintomas (Gullino, 1994). A probabilidade de infecção na pós-colheita depende da quantidade de inóculo presente em um ponto do fruto suscetível. Esta relação com frutos cítricos foi demonstrada para patógenos importantes, como *P. digitatum* (Wild & Eckert, 1982).

O bolor verde (*Penicillium digitatum*) é considerado a principal doença pós-colheita dos citros e está disseminado em todos os países produtores, afetando todas as espécies e variedades cítricas (Eckert & Eaks, 1989). Provoca uma podridão mole no fruto, recobrando-o com micélio branco e grande número de esporos, os quais lhe dão uma coloração verde. A ocorrência da doença depende muito das condições climáticas e da forma de manipulação dos frutos, desde o pomar até o consumidor, já que a infecção ocorre mediante ferimentos na casca do fruto (Laranjeira et al., 2005).

No Brasil, apenas no ano de 2021, foram consumidas 720,87 mil toneladas (IBAMA; 2021) de agrotóxicos, condição que posiciona o País entre os maiores consumidores desses agentes no mundo. Somente os monocultivos de soja, milho, algodão e cana-de-açúcar são responsáveis por 85% do total de agrotóxicos utilizados (Pignati WA, Lima FANS, Lara SS, et al. 2017). Em 2017, segundo Bombardi, havia 715 agrotóxicos com uso autorizado no Brasil, sendo que 177 destes tinham uso proibido na União Europeia (UE) (Bombardi LM 2017), o que expressa uma conjuntura brasileira permeada de conflitos de interesse que interferem diretamente na regulação ambiental e sanitária do País, tendo se agravado nos últimos anos com a liberação do uso e da realização de 2.807 novos registros de agrotóxicos entre 2017 e o primeiro semestre de 2022 (Wendling GG, Bargas DC 2023).



2 JUSTIFICATIVA

O presente projeto justifica-se pela crescente preocupação com os impactos ambientais e à saúde humana decorrentes do uso intensivo de agroquímicos na agricultura brasileira. O fungo *Penicillium digitatum*, agente causador do bolor verde, é responsável por significativas perdas pós-colheita em frutos cítricos, principalmente na laranja, uma das culturas mais relevantes economicamente no país. Tradicionalmente, o controle dessa doença tem sido realizado por meio de fungicidas sintéticos, que, embora eficazes, promovem a resistência de patógenos, deixam resíduos químicos nos alimentos e contaminam o solo e os recursos hídricos.

Diante desse cenário, torna-se essencial a busca por alternativas sustentáveis e economicamente viáveis que minimizem os impactos negativos dos produtos químicos. O uso de extratos vegetais com potencial antifúngico surge como uma proposta inovadora, capaz de aliar a eficácia no controle de fitopatógenos à preservação ambiental. Além disso, tal abordagem valoriza o conhecimento popular sobre as propriedades medicinais e antimicrobianas de diversas espécies vegetais, promovendo a integração entre saberes tradicionais e científicos.

Assim, este estudo justifica-se pela necessidade de desenvolver métodos alternativos e sustentáveis para o controle do bolor verde na laranja, contribuindo para a redução do uso de agroquímicos e incentivando práticas agrícolas mais seguras, ecológicas e compatíveis com os princípios da agroecologia e da saúde pública.



3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O principal objetivo desta pesquisa é avaliar o uso de diferentes extratos vegetais com plantas desidratadas, Arruda (*Ruta graveolens*), Loro (*Laurus nobilis*), Uva-Do-Japão (*Hovenia dulcis Thunb*), Acacia (*Acacia* sp), Eucalipto (*Eucalyptus* sp), Melão De São Caetano (*Momordica* sp), Alfavaca (*Ocimum* sp), Cravo (*Syzygium aromaticum*), Espátódea (*Spathodea campanulata*), Olho De Boi (*Mucuna urens*), no controle do crescimento micelial do fungo causador do bolor verde na laranja (*Penicillium digitatum*).

3.2 Objetivos específicos

- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Arruda (*Ruta graveolens*), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Quebra Pedra Loro (*Laurus nobilis*), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Uva-Do-Japão (*Hovenia dulcis Thunb*), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Acacia (*Acacia* sp), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Eucalipto (*Eucalyptus* sp) no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Melão De São Caetano (*Momordica* sp), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Alfavaca (*Ocimum* sp), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Cravo (*Syzygium aromaticum*), no



controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.

- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Espatódrea (*Spathodea campanulata*), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.
- Avaliação de diferentes concentrações do extrato de Olho De Boi (*Mucuna urens*), no controle do crescimento micelial do fungo *P. digitatum*.



4 METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no laboratório de ciências do Colégio Estadual Jardim Porto Alegre, localizado em Toledo, Paraná. No início, foi feita uma investigação junto ao saber popular para identificar quais plantas poderiam ser utilizadas na produção dos extratos vegetais. Em seguida, foi realizada uma busca na literatura científica para verificar se já existiam pesquisas relacionadas às plantas mencionadas pelo conhecimento popular. Constando-se que essas espécies ainda não haviam sido analisadas quanto ao seu potencial antifúngico com o fungo *Penicillium digitatum*, foram se selecionadas Arruda (*Ruta graveolens*), Loro (*Laurus nobilis*), Uva-Do-Japão (*Hovenia dulcis Thunb*), Acacia (*Acacia sp*), Eucalipto (*Eucalyptus sp*), Melão De São Caetano (*Momordica sp*), Alfavaca (*Ocimum sp*), Cravo (*Syzygium aromaticum*), Espatódea (*Spathodea campanulata*), Olho De Boi (*Mucuna urens*), como mostra a tabela 1:

Tabela 01: Plantas utilizadas para o preparo dos extratos vegetais na Parte I:

	EXTRATO VEGETAL	CONCENTRAÇÃO
T1	CONTROLE - ÁGUA	0 gL ⁻¹
T2	ARRUDA (<i>Ruta graveolens</i>)	5 gL ⁻¹
T3	ARRUDA (<i>Ruta graveolens</i>)	10 gL ⁻¹
T4	ARRUDA (<i>Ruta graveolens</i>)	15 gL ⁻¹
T5	ARRUDA (<i>Ruta graveolens</i>)	20 gL ⁻¹
T6	LORO (<i>Laurus nobilis</i>)	5 gL ⁻¹
T7	LORO (<i>Laurus nobilis</i>)	10 gL ⁻¹
T8	LORO (<i>Laurus nobilis</i>)	15 gL ⁻¹
T9	LORO (<i>Laurus nobilis</i>)	20 gL ⁻¹
T10	UVA-DO-JAPÃO (<i>Hovenia dulcis Thunb</i>)	5 gL ⁻¹
T11	UVA-DO-JAPÃO (<i>Hovenia dulcis Thunb</i>)	10 gL ⁻¹
T12	UVA-DO-JAPÃO (<i>Hovenia dulcis Thunb</i>)	15 gL ⁻¹
T13	UVA-DO-JAPÃO (<i>Hovenia dulcis Thunb</i>)	20 gL ⁻¹
T14	ACACIA (<i>Acacia sp</i>)	5 gL ⁻¹
T15	ACACIA (<i>Acacia sp</i>)	10 gL ⁻¹
T16	ACACIA (<i>Acacia sp</i>)	15 gL ⁻¹
T17	ACACIA (<i>Acacia sp</i>)	20 gL ⁻¹
T18	EUCALIPTO (<i>Eucalyptus sp</i>)	5 gL ⁻¹



T19	EUCALIPTO (<i>Eucalyptus sp</i>)	10 gL ⁻¹
T20	EUCALIPTO (<i>Eucalyptus sp</i>)	15 gL ⁻¹
T21	EUCALIPTO (<i>Eucalyptus sp</i>)	20 gL ⁻¹
T22	MELÃO DE SÃO CAETANO (<i>Momordica sp</i>)	5 gL ⁻¹
T23	MELÃO DE SÃO CAETANO (<i>Momordica sp</i>)	10 gL ⁻¹
T24	MELÃO DE SÃO CAETANO (<i>Momordica sp</i>)	15 gL ⁻¹
T25	MELÃO DE SÃO CAETANO (<i>Momordica sp</i>)	20 gL ⁻¹
T26	ALFAVACA (<i>Ocimum sp</i>)	5 gL ⁻¹
T27	ALFAVACA (<i>Ocimum sp</i>)	10 gL ⁻¹
T28	ALFAVACA (<i>Ocimum sp</i>)	15 gL ⁻¹
T29	ALFAVACA (<i>Ocimum sp</i>)	20 gL ⁻¹
T30	CRAVO (<i>Syzygium aromaticum</i>)	5 gL ⁻¹
T31	CRAVO (<i>Syzygium aromaticum</i>)	10 gL ⁻¹
T32	CRAVO (<i>Syzygium aromaticum</i>)	15 gL ⁻¹
T33	CRAVO (<i>Syzygium aromaticum</i>)	20 gL ⁻¹
T34	ESPATÓDEA (<i>Spathodea campanulata</i>)	5 gL ⁻¹
T35	ESPATÓDEA (<i>Spathodea campanulata</i>)	10 gL ⁻¹
T36	ESPATÓDEA (<i>Spathodea campanulata</i>)	15 gL ⁻¹
T37	ESPATÓDEA (<i>Spathodea campanulata</i>)	20 gL ⁻¹
T38	OLHO DE BOI (<i>Mucuna urens</i>)	5 gL ⁻¹
T39	OLHO DE BOI (<i>Mucuna urens</i>)	10 gL ⁻¹
T40	OLHO DE BOI (<i>Mucuna urens</i>)	15 gL ⁻¹
T41	OLHO DE BOI (<i>Mucuna urens</i>)	20 gL ⁻¹

Fonte: Lara Rauber (2025).

PREPARO DOS EXTRATOS

Após as plantas serem selecionadas, elas foram desidratadas em uma estufa de secagem e moídas em um liquidificador para serem utilizadas na primeira etapa do projeto. Já para a segunda etapa as plantas foram utilizadas *in natura*. Em seguida, as plantas foram pesadas nas concentrações de 5/10/15/20g/L⁻¹ que em forma reduzida seria 0,5/1/1,5/2g para 100ml. A quantidade de extrato a ser utilizada é de apenas 20ml, desta forma optou-se em reduzir a concentração das plantas para não ter desperdício de material, para isso usou-se regra de três para diminuir a quantidade sem que diminua a concentração. Quando as plantas



já estavam preparadas, elas foram alocadas em garrafas pets e foi acrescentado água destilada com o auxílio de uma pipeta, após isso os extratos vegetais foram identificados e tampados e em seguida e levados para um local sem luz por 7 dias.

PREPARO DO MEIO BDA

Após os 7 dias iniciou-se o preparo do meio BDA (batata, dextrose e ágar), com 170g de batata, 12g de ágar e 20g de dextrose por litro. Primeiramente, as batatas foram picadas e batidas em um liquidificador, em seguida elas foram colocadas em uma panela e foi acrescentado água destilada e colocadas para cozinhar. Após o cozimento das batatas, o caldo foi peneirado e em seguida foi-se despejado 1 litro de meio de cultura em cada becker. Em seguida, foi levado ao fogo até atingir 70 graus Celsius, quando a temperatura foi atingida a dextrose e o ágar foram adicionados ao meio de cultura.

Quando o meio BDA ficou pronto, despejou-se em Erlenmeyers, e em seguida pipetou-se o extrato, e os frascos foram vedados e autoclavados.

Figura 1/2/3: Aluna pipetando, amostra dos erlenmeyers prontos/ despejando o meio.



Fonte: Vitória Goulart / Vitória Goulart / Vitória Goulart.



EMBALAGEM DAS PLACAS DE PETRI

Enquanto os Erlenmeyer passavam pelo processo de autolavagem embalou-se as placas e posteriormente foram autoclavadas.

Figura 4: Placas embaladas.



Fonte: Fernanda Jank.

INOCULAÇÃO DO FUNGO

Quando os Erlenmeyer e as placas já estavam autoclavadas, colocou-se nas bancadas perto do fogo. Após isso as placas foram registradas com nome do tratamento e a data de inoculação. Em seguida, o meio de cultura, contendo os extratos, foi então vazado nas placas e esperou-se atingir a temperatura ambiente.

Figura 5/6: Aluna registrando as placas/ Aluna despejando o meio nas placas.



Fonte: Vitória Goulart/ Vitória Goulart.



Quando o meio de cultura atingiu a temperatura ambiente, iniciou-se a inoculação do fungo com o auxílio de um incisor, quando todas as placas já estavam inoculadas embalou-se as placas e levou-se para a BOD.

Figura 7/8: Aluna inserindo o fungo nas placas/ Aluna embalando as placas.



Fonte: Gabrieli Monique/ Gabrieli Monique.

MEDIÇÃO DA COLONIA

Após dois dias iniciou-se as medições do crescimento micelial do fungo de 48 em 48 horas, o diâmetro micelial foi medido com o auxílio de um paquímetro. Os resultados foram calculados e submetidos a análise estatística usando o sistema SISVAR com o teste de média de Scott Knott com 0,5% de significância.



5 RESULTADOS OBTIDOS

Muitos dos extratos mostraram-se promissores para a inibição do fungo, *Penicillium digitatum*, entre eles a Uva-do-Japão (*Hovenia dulcis Thunb*), Olho de Boi (*Mucuna urens*) e Melão-São Caetano (*Momordica* sp), com mais de 50% de inibição do desenvolvimento micelial do fungo.

Tabela 2: Tabela de resultados.

Tratamento	Médias	entagem de inibição	Resultado estatístico
T11	2,61	58,83%	A
T40	2,74	56,78%	A
T41	2,82	55,52%	A
T23	3,00	52,68%	A
T25	3,15	50,31%	A
T2	3,18	49,84%	A
T12	3,35	47,6%	A
T13	3,53	44,32%	A
T10	3,57	43,69%	A
T22	3,72	4,32%	B
T9	3,82	38,74%	B
T3	3,91	38,32%	B
T14	3,92	38,17%	B
T8	3,98	37,22%	B
T27	4,05	36,11%	B
T32	4,06	35,96%	B
T2	4,68	35,96%	B
T38	4,14	37,70%	B

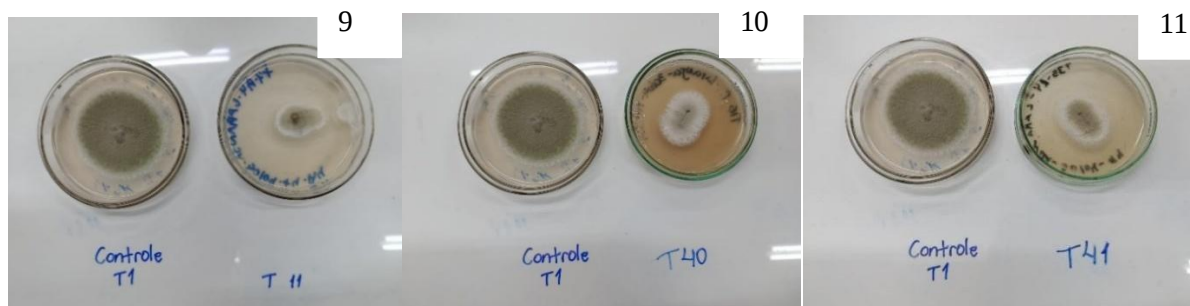


T6	4,25	34,70%	B
T19	4,40	30,69%	B
T7	4,43	30,12%	B
T24	4,56	28,07%	B
T4	4,65	26,65%	C
T21	4,82	23,97%	C
T20	4,83	23,81%	C
T16	5,10	19,55%	C
T34	5,17	18,45%	C
T28	5,33	15,33%	C
T5	3,00	14,36%	C
T31	5,53	2,77%	C
T39	5,67	10,56%	C
T35	6,03	4,88%	D
T33	6,16	2,83%	D
T18	6,17	7,38%	D
CONTROLE	6,34	0,0%	D
T30	6,37	2,68%	D
T17	6,51	5,83%	D
T37	6,71	7,38%	D
T36	6,81	7,41%	D
T29	6,81	7,41%	D

Fonte: Pollyana Marques.



Figura 9/10/11: Melhores resultados obtidos.



Fonte: Pollyana Marques

De acordo com Klauck (2021), eficácia do extrato de *Hovenia dulcis* no controle da antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* apresentou resultados satisfatórios onde em testes na pós-colheita dos frutos de morango e berinjela não houveram a ocorrência da antracnose, ou seja, os resultados obtido no projeto se apresentaram semelhanças aos de Klauck et al (2021), onde o extrato de *Hovenia dulcis* apresentou quase 60% de inibição do fungo *Penicillium digitatum*.



6 CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitos dos extratos mostraram-se promissores para a inibição do fungo, *Penicillium digitatum*, entre eles a Uva-do-Japão (*Hovenia dulcis* Thunb), Olho de Boi (*Mucuna urens*) e Melão-São Caetano (*Momordica* sp), com mais de 50% de inibição do desenvolvimento micelial do fungo.

Desta forma os extratos vegetais mostram-se uma alternativa viável ao controle do fitopatógeno, sendo também uma alternativa, sustentável ao uso de agroquímicos potencialmente perigosos e poluentes. Assim os objetivos que foram estabelecidos no início do projeto foram cumpridos, onde os extratos vegetais apresentaram resultados significativos no controle do bolor verde na laranja.



REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL: **anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2012. 482p
- BOMBARDI LM. Geografia do **Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia**. São Paulo: FFLCH-USP; 2017.
- COLLETA FILHO H (2005) **Fungos, procariotos e doenças abióticas**. In: Mattos Junior D, De Negri Jd, Pio Rm, Pompeu Junior J (Eds.) Citros. Campinas Sp. Instituto Agrônômico E Fundag, Cap. 18, pp. 511-558.
- ECKERT JW, EAKS IL (1989) Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: Reuter W, Calavan EC, Carman GE (Eds.) The Citrus Industry. Vol. 5. Berkeley. University of California Press. GULLINO ML (1994) Lotta biologica a funghi agenti de arciumi della frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatologico** 4:5-13.
- LARANJEIRA FF, AMORIM L, BERGAMIN FILHO A, AGUILAR-VILDOSO CI, DELLA COLLETA FILHO H (2005) **Fungos, procariotos e doenças abióticas**. In: Mattos Junior D, De Negri Jd, Pio Rm, Pompeu Junior J (Eds.) Citros. Campinas Sp. Instituto Agrônômico E Fundag, Cap. 18, pp. 511-558.
- PIGNATI WA, LIMA FANS, LARA SS, et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciênc. saúde coletiva**. 2017; 10:3281-3293.
- WILD BL, ECKERT JW (1982) Synergy between a benzimidazole-sensitive isolate and benzimidazole-resistant isolates of *Penicillium digitatum* **Phytopathology** 72:1329-1332.