

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA
SOUZA**

ESCOLA TÉCNICA ESTADUAL DE MAUÁ
Ensino Médio Integrado ao Técnico em Química

Filipe Reis da Guarda Ribeiro

Heitor Assis de Souza

Hugo Teixeira de Souza

Kauê Lopes dos Santos

Leonardo Martins de Souza Nunes Silva

Vinícius de Assis Nascimento

**BIOPESTICIDA INIBIDOR DA CARBOXIPEPTIDASE À BASE DO
TOMATE (*Solanum lycopersicum*) PARA O COMBATE DE
FITONEMATOIDES.**

Mauá

2025

Filipe Reis da Guarda Ribeiro
Heitor Assis de Souza
Hugo Teixeira de Souza
Kauê Lopes dos Santos
Leonardo Martins de Souza Nunes Silva
Vinícius de Assis Nascimento

**BIOPESTICIDA INIBIDOR DA CARBOXIPEPTIDASE À BASE DO
TOMATE (*Solanum lycopersicum*) PARA O COMBATE DE
FITONEMATOIDES.**

Desenvolvimento de Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Técnico em Química da Etec de Mauá, orientado pela Professora Camila de Oliveira e Karen Nabarro, como requisito parcial para a obtenção do título de técnico em Química.

Mauá
2025

RESUMO

Este trabalho investiga o uso de biopesticidas contra os parasitas fitonemaotoides. Além disso, esta obra aborda o potencial da família Solanaceae de torna-se um agente contra pragas rurais e as características dos fitonemaoides. Ademais, é explorado os aspectos químicos e microbiológicos dos inibidores da *Carboxipeptidase* -substância presente nas espécies da família *Solanaceae*-. Como também, é evidenciado os malefícios do uso de pesticidas convencionais para a flora e a saúde humana. E tem como objetivo produzir um biopesticida, à base do tomate (*Solanum lycopersicum*), capaz de reduzir os efeitos negativos dos pesticidas convencionais, não oferecendo grandes riscos para a saúde. A respeito disso, foi seguido uma metodologia, na qual, foi adaptada para o ambiente escolar e que foi caracterizada por processos como: preparação de uma amostra; testes microbiológicos; análise de precipitação gravimétricas; Aferição de pH. Os resultados obtidos foram parcialmente satisfatórios, indicando a necessidade de aprimoramentos em alguns processos. Ainda assim, os achados demonstram que o biopesticida desenvolvido apresenta potencial promissor, exigindo ajustes metodológicos para maior eficiência.

Palavras chaves: Biopesticidas; Fitonematoides; *Solanaceae* *Solanum*; *Solanum lycopersicum*; inibidores da *carboxipeptidase*

ABSTRACT

This work investigates the use of biopesticides against *phytonematode* parasites. In addition, it addresses the potential of the *Solanaceae* family to become an agent against rural pests and the characteristics of *phytonematodes*. Furthermore, it explores the chemical and microbiological aspects of carboxypeptidase inhibitors—substances present in species of the *Solanaceae* family. The study also highlights the harmful effects of conventional pesticides on flora and human health. Its objective is to produce a tomato-based (*Solanum lycopersicum*) biopesticide capable of reducing the negative impacts of conventional pesticides while posing minimal health risks. To achieve this, a methodology adapted to the school environment was followed, characterized by processes such as sample preparation, microbiological tests, gravimetric precipitation analysis, and pH measurement. The results obtained were partially satisfactory, indicating the need for improvements in some processes. Nevertheless, the findings demonstrate that the developed biopesticide shows promising potential, requiring methodological adjustments for greater efficiency.

Keywords: Biopesticides; *Phytonematodes*; *Solanum lycopersicum*; *Carboxypeptidase inhibitors*

SUMÁRIO

RESUMO	3
ABSTRACT	4
1.INTRODUÇÃO	4
2.JUSTIFICATIVA.....	6
3.OBJETIVOS	8
3.1.Objetivo geral	8
3.2.Objetivos específicos.....	8
4.REFERENCIAL TEÓRICO	9
4.1.Fitonematoides	9
4.2.Pesticidas convencionais	9
4.3.Biopesticidas	11
4.4.Família Solanaceae	12
4.5.Inibidores da carboxipeptidase	13
4.6.Métodos de extração dos ICP's.....	14
4.6.Testes microbiológicos	15
5.METODOLOGIA	18
6.MATERIAIS E REAGENTES.....	19
6.1.Materiais	19
6.2.Reagentes.....	19
7.PROCEDIMENTO	20
8.RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
9.CONCLUSÃO.....	25
10.REFERÊNCIAS.....	26

1.INTRODUÇÃO

A agricultura é de extrema importância para o mercado global quanto para o mercado nacional. Por exemplo, o Brasil é um dos maiores exportadores de cereais, grãos, frutas, cana-de-açúcar e café. Por conta disso, este setor econômico vem crescendo consideravelmente, alcançando números altíssimos e tendo grande participação no PIB (Produto Interno Bruto) nacional. Além disso, a área agrícola é responsável por gerar muitas oportunidades de emprego em território brasileiro (GOMES,2023). Segundo a CNA (Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil) em parceria com o Cepea (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada), o agronegócio emprega 27% da população brasileira.

No entanto, o setor agrícola é vítima de um problema gravíssimo para o seu crescimento: invasão de parasitas nematoides em plantações agrícolas. Os parasitas nematoides, mais especificamente os fitonematoides, são responsáveis por causar perdas consideráveis em plantações de algodão, soja, batata, tomate, café, entre outras. Essas perdas causam prejuízos tanto para os agricultores como também para os consumidores (ROLIM et al, s.d). De acordo com Sociedade Brasileira de Nematologia (SBN) estes parasitas causam perdas de R\$35 bilhões anuais aos agricultores brasileiros. Os nematoides têm uma relação parasitária com uma ampla variedade de cultivos. Eles se alimentam dos órgãos subterrâneos das plantas (raízes, rizomas, tubérculos, bulbos e fruto hipógeo), causando danos significativos e, conseqüentemente, impactando a produção agrícola (ROLIM et al, s.d).

Para combater esses parasitas, os agricultores utilizam pesticidas convencionais, que são relacionados a problemas de toxicidade, impacto ambiental e social. (FERRAZ; BROWN, 2016). Estes produtos químicos possuem como funções principais afastar e eliminar pragas, podendo ir de micro-organismos como os fungos, até seres de grande porte como as aves, os pesticidas convencionais não somente são nocivos aos seus alvos principais, mas também a tudo ao seu redor, como a biodiversidade local, rios, lagos, reservatórios, locais subterrâneos (MELO et al, s.d).

Uma alternativa viável e sustentável para combater os fitonematoides são os biopesticidas. Hoje em dia existem vários tipos de biopesticidas, que são uma alternativa mais sustentável para substituir os pesticidas convencionais. Como os químicos, os microbianos e os incorporados (MANDIGA; CRAVID, 2023).

Dentre as substância que têm o potencial de torna-se um biopesticida, pode se falar dos inibidores de proteases (ICP's), que são utilizados pelas plantas da família *Solanaceae* (Tomates, batatas, berinjelas e pimentões) como mecanismo de defesa contra insetos herbívoros e patógenos (AFROZ et al., 2020; MOLESINI et al., 2017; GOMES, 2023). Portanto, é evidente a necessidade de um biopesticida para combater os fitonematoides.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo criar um biopesticida, capaz de combater os fitonematoides, à partir das folhas do tomate (*Solanum lycopersicum*).

2.JUSTIFICATIVA

Os fitonematoides, como os do gênero *Meloidogyne*, representam uma das principais ameaças à agricultura global, causando perdas anuais estimadas entre US\$ 80 bilhões e US\$ 157 bilhões (COYNE; NICOL; CLAUDIUS-COLE, 2018; SILVA et al., 2021). No Brasil, esses parasitas afetam significativamente culturas de alto valor, como o tomateiro (*Solanum lycopersicum*), comprometendo a produtividade e a qualidade dos frutos (SILVA; OLIVEIRA; MOITA, 2015).

O controle convencional desses nematoides baseia-se no uso de nematicidas sintéticos, que, além de onerosos, apresentam riscos ambientais e à saúde humana. Ademais, a eficácia desses produtos pode ser reduzida devido ao desenvolvimento de resistência pelos patógenos. Nesse contexto, há uma demanda crescente por alternativas sustentáveis e acessíveis, especialmente para agricultores orgânicos de pequeno e médio porte, que enfrentam restrições quanto ao uso de defensivos químicos (FERRAZ; BROWN, 2016).

Espécies do gênero *Solanum* são conhecidas por produzir compostos bioativos com propriedades defensivas. Em particular, o tomateiro contém α -tomatina, um glicoalcaloide com atividade comprovada contra diversos fitopatógenos, incluindo nematoides (FRIEDMAN, 2002). Além disso, inibidores de carboxipeptidase presentes em *S. lycopersicum* têm demonstrado potencial na inibição de enzimas digestivas de patógenos, interferindo em sua capacidade de parasitismo (GOMES, 2023).

A utilização de extratos foliares de tomateiro, um subproduto agrícola de fácil obtenção, para a formulação de biopesticidas representa uma estratégia promissora. Essa abordagem não apenas oferece uma solução de baixo custo e ambientalmente amigável, mas também se alinha aos princípios da agricultura orgânica, promovendo a autonomia e a sustentabilidade de pequenos e médios produtores.

O desenvolvimento de um biopesticida a partir de folhas de *S. lycopersicum* busca reduzir os danos causados por fitonematoides e promover práticas agrícolas mais sustentáveis, fortalecendo a segurança alimentar e a economia das comunidades rurais.

3.OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Produzir um biopesticida, à base do tomate (*Solanum lycopersicum*), capaz de reduzir os efeitos negativos dos pesticidas convencionais de maneira efetiva e notável, não oferecendo grandes riscos para a saúde de seus aplicadores no campo, à população responsável por consumir o produto cultivado e à natureza e sua biodiversidade.

3.2. Objetivos específicos

- Revisar a literatura científica sobre fitonematoides, pesticidas convencionais, biopesticidas, inibidores de carboxipeptidase presentes na família *Solanaceae*;
- Caracterizar o papel dos inibidores de carboxipeptidase no mecanismo de defesa das plantas contra fitonematoides;
- Pesquisar e selecionar métodos de extração de inibidores de carboxipeptidase em folhas de *Solanum lycopersicum*;
- Obter e preparar extratos da folha de tomateiro utilizando metodologias adequadas;
- Desenvolver formulações experimentais de biopesticida à base de extratos de folhas de tomate, com base em referências científicas confiáveis;
- Realizar testes microbiológicos para avaliar a eficácia do extrato em diferentes condições;
- Investigar possíveis propriedades adicionais do extrato, como atividade fungicida.

4.REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. Fitonematoides

Os nematoides são microrganismos que se constituem na espécie conhecida como filo *Nematoda*. Eles atuam gerando lesões e causando infecções secundárias à planta, o que facilita no processo de entrada de outros microrganismos patogênicos na planta, causando enormes prejuízos à agricultura (FERRAZ; BROWN, 2016; SIKANDAR et al., 2020).

Esses nematoides utilizam estiletes especializados para perfurar células vegetais e secretar enzimas hidrolíticas, como as metalocarboxipeptidases (MCPs), que degradam proteínas da planta e facilitam sua invasão e colonização (CASTAGNONE-SERENO et al., 2011; GODBOLE; KHARAT, 2022; AULD, 2013). As MCPs pertencem à família M14 das metalopeptidases e atuam clivando resíduos carboxiterminais, sendo, por isso, componentes essenciais na patogenicidade desses organismos (CASTAGNONE-SERENO et al., 2011; GODBOLE; KHARAT, 2022; AULD, 2013).

4.2.Pesticidas convencionais

Os pesticidas convencionais são produtos químicos comumente aplicados em plantações de grande porte, tais produtos possuem como funções principais afastar e eliminar pragas, podendo ir de micro-organismos como os fungos, até seres de grande porte como as aves, os pesticidas convencionais não somente são nocivos aos seus alvos principais, mas também a tudo ao seu redor, como a biodiversidade local, rios, lagos, reservatórios, locais subterrâneos (MELO et al, s.d). E também para aqueles que o aplicam e possuem contato direto com o mesmo, seu uso afeta em diversos aspectos da sociedade e do meio ambiente, cerca 30% das intoxicações agudas registradas mundialmente estão relacionadas à exposição dos pesticidas, os custos da desintoxicação pode chegar a ultrapassar bilhões de dólares (anualmente), também, o seu uso pode representar uma grande parcela dos gastos em uma produção (podendo corresponder em até 20% do custo total) (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018).

Dentre seus tipos existem: Inseticidas; Herbicidas; Fungicidas; Nematicidas; Bactericidas; Rodenticidas. Os Nematicidas são responsáveis pelo

controle e eliminação dos nematóides, tendo como exemplo de nematóides alvos dos nematicidas, os fitonematoides, que são subgrupos de nematoides, o seu uso tem sido cada vez mais raro por conta de sua alta toxicidade e de seus impactos negativos na saúde humana como irritações, intoxicações agudas e problemas crônicos, na saúde animal como bioacumulação e até a intoxicação de animais domésticos próximos às plantações que passam pela aplicação deste produto, e também na saúde de organismos benéficos para o solo, causando reduções na biodiversidade do solo e desequilíbrio ecológico, também, os nematicidas possuem um custo alto, dificultando sua acessibilidade para países subdesenvolvidos, além do fato de que seu uso constante resulta no aumento da resistência das pragas aos nematicidas, tornando seus uso inapropriado, com altos custos e principalmente não seguro para saúde tanto humana, quanto da natureza (DONG; ZHANG, 2006 apud MARQUES, 2018).

O constante uso desses produtos acaba acarretando a geração de resistência contra estes produtos pelo seu principal alvo, acarretando o consumo cada vez maior desses produtos, aumentando o número de contaminações dos produtos, causando prejuízos milionários aos seus produtores (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018).

Os pesticidas convencionais também causam danos nas plantações, como a perda da fertilidade da terra, fazendo com que os agricultores recorram à ampliação de seus terrenos de plantação, o que, dependendo da situação e do local, pode acabar acarretando o desmatamento de matas nos arredores, afetando o ecossistema e a biodiversidade local, sem contar que acaba por favorecer a poluição da camada de ozônio, uma vez que sem árvores para filtrarem o gás carbônico, os níveis do mesmo acabam por aumentar na atmosfera. Não somente isso, mas também as águas são afetadas, sendo contaminadas devido o escoamento do pesticida convencional para rios, lagos, águas subterrâneas e até mesmo em reservatórios de água potável se é possível achar contaminação por pesticidas, o produto produzido nas plantações obviamente não fica de fora disto, uma vez que as plantas cultivadas possuem níveis de contaminação por pesticidas, levando o risco para as cidades onde o produto cultivado será consumido (COUTINHO; ARANTES; LIPORACE, 2023)

O consumo e a exposição aos pesticidas convencionais podem causar vários problemas a saúde física e mental sendo eles: o câncer de próstata, mama

e cerebral, infertilidade masculina e feminina, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), autismo, doenças renais, comprometimento celular do fígado causando doenças hepáticas, Alzheimer, depressão, má formação fetal, hipotireoidismo, reações alérgicas e doenças cardíacas (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018).

Os pesticidas convencionais são de longe a pior escolha já feita para o tratamento de pragas em plantações, seu uso é extremamente prejudicial, o que leva a necessidade de uma opção mais sustentável, saudável e segura o mais rápido o possível.

4.3.Biopesticidas

Hoje em dia existem vários tipos de biopesticidas, que são uma alternativa mais sustentável para substituir os pesticidas convencionais. Como os químicos, os microbianos e os incorporados. Uma pesquisa realizada pela USP demonstrou a eficácia de um biopesticida microbiano. Nessa pesquisa, foi evidenciado que a bactéria *Pediacoccus pentosaceus* tem propriedades que agem como um escudo que impede algumas espécies de fungos de produzirem substâncias que seriam prejudiciais para os seres humanos e para as plantas (OLIVEIRA, 2023). Outro estudo realizado pela Embrapa utilizou o isolado de um fungo que demonstrou uma grande eficácia no controle de um pulgão da espécie *Myzus persicae*. Esse fungo atua diretamente ao entrar em contato com o pulgão, seja por meio da planta ou pelo cadáver de outros insetos infectados. Quando o fungo entra em contato com o seu hospedeiro, ele libera esporos que penetram no exoesqueleto, causando uma morte por infecção. Como os pulgões têm uma alta mobilidade, isso permite que o fungo infecte mais do que um indivíduo. Ele adquire a capacidade de infectar a colônia inteira que afeta a planta. O fungo *Beauveria bassiana* (fungo mencionado acima) também tem eficácia contra percevejos e outras pragas (MASCARIN et.al, 2009).

Os feromônios sexuais são substâncias químicas que também podem ser usadas como princípio ativo em biopesticidas, são produzidas pelos insetos para atrair parceiros. Os feromônios podem ser utilizados para diminuir a população de insetos, pois, uma vez que são espalhados em grandes quantidades, confundem os machos, já que o ambiente fica saturado do cheiro dos

feromônios. Como resultado, os machos não conseguem encontrar as fêmeas para acasalar, diminuindo drasticamente a população de insetos. Países como EUA, Chile e algumas partes da Europa utilizam essa técnica para combater as traças da maçã, cujo nome científico é *Cydia pomonella*. Essa é uma das principais pragas da fruticultura, especialmente em plantações de maçã, pera, pêssigo e noz. Ela é uma mariposa pequena, mas as larvas causam grandes danos aos frutos (MENDES; BARBOSA, 2024).

Os biopesticidas incorporados são aqueles que são aplicados diretamente no DNA da planta, esse tipo de biopesticida é do tipo interno, a planta produz substâncias que afastam insetos e demonstram mais resistência aos contra-ataques microbiológicos. A planta que utiliza esse biopesticida tem genes adicionados ao seu DNA para produzir certos compostos. Um bom exemplo é o milho Bt, que incorpora genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* e passa a produzir toxinas contra determinadas lagartas (MACHADO, 2023). Esse tipo de biopesticida reduz a necessidade de aplicação externa de inseticidas.

4.4.Família *Solanaceae*

A família *Solanaceae* inclui diversas plantas, muitas das quais possuem mecanismos de defesa eficazes. Tomates, batatas, berinjelas e pimentões, por exemplo, produzem compostos bioativos como glicoalcaloides, alcaloides, saponinas e lectinas. Esses compostos desempenham um papel fundamental na defesa contra herbívoros e patógenos, podendo ser tóxicos, interferir na digestão de proteínas ou até inibir enzimas digestivas, como as proteases (incluindo a carboxipeptidase). Os compostos bioativos presentes nas plantas da família *Solanaceae* são essenciais para sua proteção contra herbívoros, fungos e bactérias (GOMES, 2023).

Plantas da família *Solanaceae*, como tomate (*Solanum lycopersicum*), batata (*Solanum tuberosum*) e berinjela (*Solanum melongena*), produzem inibidores de proteases como mecanismo de defesa contra insetos herbívoros e patógenos. Entre esses, os inibidores de carboxipeptidase (ICPs) ganham destaque por sua ação específica contra MCPs, inibindo enzimas-chave envolvidas na virulência dos fitonematoides (AFROZ et al., 2020; MOLESINI et al., 2017; GOMES, 2023).

Dentre os ICPs, destaca-se o ICP-SMEL, isolado da berinjela, que atua inibindo as MCPs produzidas por *Meloidogyne incognita*, o nematoide das galhas. Estudos demonstraram que o ICP-SMEL se liga aos sítios catalíticos das MCPs com alta especificidade, bloqueando sua atividade e interferindo diretamente no ciclo de infecção do nematoide, reduzindo sua patogenicidade (GOMES, 2023; HUANG et al., 2003; JAOUANNET et al., 2012).

4.5. Inibidores da carboxipeptidase

São peptídeos antimicrobianos, antifúngicos e antivirais com a capacidade de inibir a carboxipeptidase. Comumente encontrado na família *Solanaceae*, especificamente no gênero *Solanum*, que abrange vegetais como Tomate (*Solanum lycopersicum*), berinjela (*Solanum melongena*), batata (*Solanum tuberosum*) e pimenta (*Capsicum annuum*) (GOMES, 2023). A ação antimicrobiana deste inibidor, é destacada por diversos estudos tanto nacionais quanto internacionais.

A carboxipeptidase (CP's) atua na interação entre patógenos e vegetais, onde as proteínas vegetais são degradadas para facilitar a invasão dos parasitas como os fitonematoides. Isso acontece devido a carboxipeptidase ser uma enzima protease. Essa substância atua, quebrando ligações peptídicas entre aminoácidos das proteínas (GOMES, 2023).

Os ICP's (inibidores da carboxipeptidase) proveniente do gênero *Solanum* atuam no sistema de defesa da planta. Isso acontece quando microrganismos, como fitonematoides, liberam a carboxipeptidase para destruir a proteção das plantas. Após os CP's serem liberados os ICP's atuam anulando sua função. Consequentemente impedindo ou dificultando a invasão dos fitonematoides (GOMES, 2023).

4.6. Métodos de extração dos ICP's

A obtenção de extratos brutos é o primeiro passo fundamental para a investigação de compostos bioativos em matrizes vegetais. A escolha do solvente e do método de extração influencia diretamente o perfil qualitativo e quantitativo dos compostos obtidos. Métodos seletivos favorecem a extração de grupos químicos específicos, reduzindo a complexidade da matriz e facilitando

as etapas subsequentes de caracterização e isolamento.

A identificação de atividades biológicas específicas requer a aplicação de técnicas cromatográficas para o fracionamento do extrato bruto, possibilitando a obtenção de frações enriquecidas em metabólitos bioativos para posterior isolamento e elucidação estrutural (GOMES, 2023).

Conforme descrito na literatura, as folhas de *Solanum lycopersicum* devem ser inicialmente trituradas em água ultrapura (Milli-Q) a 16% (p/v), submetidas a congelamento e posterior liofilização, para a concentração dos compostos em extrato seco (ANDRINO, 2011).

Este extrato seco é redissolvido em água ultrapura e submetido a partições sucessivas com solventes orgânicos imiscíveis, tais como diclorometano, para remoção de compostos apolares, e n-butanol, para extração de compostos de polaridade intermediária, utilizando funis de separação. As frações aquosas e butanólica resultantes são indicadas para avaliação da presença de compostos antifúngicos (ANDRINO, 2011).

Segundo a literatura, a fração butanólica concentra os compostos com atividade antifúngica contra *Moniliophthora perniciosa*, agente causador da vassoura-de-bruxa do cacaueiro. A fração é submetida à cromatografia em coluna com gel de permeação Sephadex LH-20, utilizando metanol como fase móvel. As frações eluídas são analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD) sob luz ultravioleta e agrupadas conforme similaridade química (ANDRINO, 2011).

Frações com bioatividade presumida são submetidas a técnicas analíticas avançadas, como cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS) e ressonância magnética nuclear de próton (^1H -RMN) para identificação estrutural dos compostos (ANDRINO, 2011).

Destaca-se a presença do glicoalcaloide α -tomatina, metabólito secundário presente nas folhas do tomateiro (*Solanum lycopersicum*), que apresenta ação inibitória significativa sobre o crescimento de *M. perniciosa*. Este composto reforça o potencial uso do extrato como agente de controle biológico alternativo a fungicidas sintéticos (ANDRINO, 2011).

Em função da indisponibilidade de equipamentos laboratoriais

especializados, metodologias alternativas simplificadas baseadas na maceração com solventes polares podem ser adotadas. Com base nos estudos correlatos, desenvolveu-se um método simplificado que consiste na trituração das folhas congeladas do tomateiro (*Solanum lycopersicum*), seguida de infusão por 24 horas sob abrigo da luz solar direta. Posteriormente, a solução é filtrada para remoção da maior parte dos sólidos e armazenada para uso subsequente (GOMES, 2023).

4.6. Testes microbiológicos

O cultivo de microrganismos fúngicos em laboratório é uma etapa fundamental para o estudo da atividade de compostos naturais com potencial antifúngico, como os extratos vegetais. A escolha da técnica de inoculação e do meio de cultura deve considerar as características fisiológicas e reprodutivas do fungo-alvo, bem como o propósito do cultivo, seja ele voltado à produção de micélio, à esporulação ou à diferenciação morfológica das colônias (SP LABOR, 2023).

Dentre os meios disponíveis, o ágar suco de tomate — também conhecido como ágar V8 — é amplamente utilizado na micologia por sua capacidade de promover o crescimento vigoroso de fungos filamentosos e estimular a formação de estruturas diferenciais, como clamidoconídios. Segundo Silva et al. (2005), esse meio apresentou eficácia na diferenciação entre isolados de *Candida dubliniensis* e *Candida albicans*, ao induzir características morfológicas distintas e favorecer a observação microscópica direta dessas estruturas. O meio é composto por 200 mL de suco de tomate industrializado, 3 g de carbonato de cálcio, 5 g de dextrose e 20 g de ágar-ágar, completando-se o volume total com água destilada até atingir um litro. Após a mistura dos ingredientes, o meio deve ser esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 minutos e, posteriormente, distribuído em placas de Petri sob condições assépticas (ALVES et al., 2006).

Para a inoculação fúngica, será utilizada a técnica de semeadura por esgotamento, que permite a distribuição progressiva da carga microbiana e a formação de colônias isoladas. Inicialmente, a placa de Petri deve ser dividida em três seções iguais utilizando marcador permanente. Em seguida, realiza-se a flambagem da alça de platina, respeitando o tempo de resfriamento para evitar

danos à amostra. A alça é então mergulhada na suspensão fúngica e utilizada para fazer estrias na primeira seção da placa. Após nova esterilização, o processo é repetido nas seções seguintes, reduzindo gradualmente a concentração de microrganismos. Todo o procedimento deve ocorrer próximo ao bico de Bunsen para minimizar o risco de contaminações externas e garantir a segurança microbiológica, conforme orientações da UNIRIO (2019) e UFRGS (2020) (KAYSER, 2023).

Para testar a atividade antifúngica do extrato de folhas de *Solanum lycopersicum* (tomateiro), rico em compostos fenólicos e proteínas inibidoras de carboxipeptidase (PR-6), serão realizados bioensaios com diferentes tratamentos. O extrato será aplicado em quatro momentos distintos: em placa controle negativa, sem fungos e sem extrato; logo após a semeadura, representando a aplicação preventiva; sobre colônias visíveis, simulando o efeito curativo; e sobre placas previamente incubadas sem crescimento aparente, avaliando a ação sobre esporos latentes. A incubação das placas será realizada a 25 °C por um período de 48 horas.

A leitura dos resultados será feita por observação macroscópica, considerando aspectos como bordos franjados, rugosidade da colônia, presença ou ausência de micélio visível e crescimento radial; e por observação microscópica direta com objetiva de 10x e 40x, podendo ser complementada por coloração com azul de lactofenol. Essa análise permitirá avaliar a presença de clamidoconídios e quantificar o impacto do extrato sobre o desenvolvimento fúngico (ALVES et al., 2006).

Considerando a composição do ágar V8 e a versatilidade na indução de estruturas diferenciais, o protocolo proposto apresenta-se como alternativa prática, de baixo custo e altamente eficaz para testes preliminares de atividade antifúngica com extratos vegetais. Além de servir como base para desenvolvimento de biopesticidas naturais, o método contribui para a validação científica de insumos agrícolas sustentáveis com potencial de aplicação em programas de manejo fitossanitário (ALVES et al., 2006).

5.METODOLOGIA

Considerando as limitações estruturais do ambiente laboratorial, propôs a adoção de uma metodologia alternativa e simplificada para a extração de compostos bioativos de origem vegetal. O procedimento iniciou-se com a utilização de folhas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), pertencente à família *Solanaceae*, reconhecida por seu potencial fitoterápico e bioquímico (GOMES, 2023). As folhas foram armazenadas em uma geladeira, que visava preservar a integridade estrutural e funcional dos tecidos vegetais e favorecia a posterior liberação de metabólitos durante o processamento (SILVA et al., 2015; FERREIRA; GENTIL, 2012).

Em seguida, as folhas congeladas foram trituradas mecanicamente, promoveram a ruptura das paredes celulares e facilitaram a solubilização dos compostos intracelulares. O material vegetal obtido foi submetido à infusão em solvente polar, como etanol ou metanol, durante 24 horas, sob temperatura ambiente e em ausência de luz solar direta, a fim de evitar a degradação dos metabólitos fotoativos (GOMES). Tal abordagem mostrou-se eficiente para a extração de compostos fenólicos, alcaloides e inibidores de enzimas, como as carboxipeptidases, com comprovada ação na defesa vegetal e atividade antimicrobiana (MATOS, 2009; SIMÕES et al., 2017).

Após o período de infusão, o extrato bruto foi filtrado por membranas ou filtros de papel com porosidade adequada, para remoção das partículas sólidas, resultando em um extrato clarificado (GOMES, 2023). Este foi armazenado sob refrigeração (aproximadamente 4 °C) até sua utilização em análises posteriores, como ensaios bioquímicos e microbiológicos, visando avaliar a atividade biológica dos compostos extraídos (BRUNETON, 2006; SOUSA et al., 2010).

A escolha dessa metodologia fundamentou-se na sua simplicidade, viabilidade em ambientes com infraestrutura limitada e eficiência na obtenção de extratos com propriedades bioativas (GOMES). Além disso, representou uma estratégia de baixo custo e alta aplicabilidade em estudos preliminares com potencial biotecnológico (CUNHA et al., 2018; COSTA et al., 2015).

6.MATERIAIS E REAGENTES

6.1.Materiais

- **Béquer:** será utilizado com o intuito de auxiliar na mistura e manipulação dos solventes e dos extratos vegetais;
- **Erlenmeyer:** seu uso será necessário durante a agitação dos extratos e dos solventes, seu formato cônico auxilia a evitar a perda por derramamento ou respingo dos reagentes;
- **Balão volumétrico:** será necessário para o preparo das soluções;
- **Pipeta volumétrica e graduada:** é essencial para o transporte de quantidades exatas durante os procedimentos;
- **Funil simples:** necessário para a filtração a vácuo que realizará a separação dos resíduos sólidos dos extratos;
- **Cápsula de porcelana:** irá atuar como recipiente para a evaporação dos solventes e aumento da concentração do extrato vegetal;
- **Espátula:** vai auxiliar no transporte de amostras e reagentes sólidos de forma segura;
- **Placas de Petri:** será usado em testes microbiológicos;
- **Almofariz e pistilo:** vai atuar na trituração manual das folhas;
- **Bastão de vidro:** auxiliará na mistura uniforme dos extratos e solventes;
- **Manta aquecedora:** irá realizar o aquecimento controlado dos extratos;
- **Balão de fundo redondo:** servirá de recipiente para o aquecimento dos extratos na manta aquecedora;
- **Estufa:** irá realizar a secagem das amostras e das vidrarias evitando contaminações;
- **Geladeira:** irá armazenar o extrato sob refrigeração;

6.2.Reagentes

- **Etanol 70% ou metanol:** será usado como solvente com o intuito de extrair compostos bioativos da folha;
- **Água:** irá ser usada na diluição e lavagem

7.PROCEDIMENTO

O procedimento experimental foi realizado em três etapas principais, executadas de forma sequencial. Inicialmente, procedeu-se à extração, na qual foram separados os materiais a serem utilizados e o pote foi devidamente higienizado com álcool etílico 70%. Em seguida, o banho-maria foi colocado em aquecimento até atingir temperatura entre 70°C e 80°C, sendo essa monitorada com o auxílio de um termômetro. Paralelamente, foram medidos 100 mL de álcool etílico 70%, os quais foram mantidos em recipiente coberto, a fim de evitar sua volatilização. Posteriormente, tarou-se um béquer e foram pesados 10,00 g de folhas de tomateiro. As folhas foram maceradas em almofariz com o auxílio de pistilo até atingirem consistência pastosa e, em seguida, foram transferidas para o pote recém-higienizado. O almofariz e o pistilo foram lavados com aproximadamente 10 mL do álcool previamente separado, sendo esse volume transferido para o pote, visando o aproveitamento total da amostra. Posteriormente, adicionou-se o volume restante do álcool ao recipiente, que foi devidamente fechado com sua tampa. O pote foi levado ao banho-maria até que sua temperatura se igualasse à da água, sendo esse processo acompanhado com o auxílio de um termômetro. Após esse período, o recipiente foi retirado e deixado em repouso até atingir a temperatura ambiente. Por fim, o pote foi envolvido com papel alumínio, visando evitar a fotodegradação dos compostos bioativos extraídos, permanecendo a solução em repouso por 24 horas. Na sequência, realizou-se o teste microbiológico. Inicialmente, foi pesada quantidade suficiente de ágar para a preparação de uma solução com volume final de 100 mL. Em seguida, o meio foi levado ao aquecimento em temperatura máxima de 60°C, utilizando-se água previamente aquecida, até a completa dissolução do ágar. Após a dissolução, a solução foi transferida para um erlenmeyer, o qual foi vedado com papel kraft e, posteriormente, encaminhado à autoclave, onde passou pelo processo de esterilização por 20 minutos. Finalizado esse processo, sob condições assépticas em fluxo laminar, foram pipetados 20 mL da solução em cada uma de quatro placas de Petri, permanecendo estas em repouso por aproximadamente 15 minutos para solidificação do meio. Paralelamente, foi preparada uma solução contendo 50 mL de água e uma amostra de fungo proveniente de fruta em estado de deterioração, a qual foi inoculada nas placas

de Petri contendo o meio de ágar, com o objetivo de promover o crescimento de fungos e bolores. Para a etapa de semeadura do ativo, inicialmente removeu-se o invólucro de papel alumínio do recipiente contendo o extrato. Em seguida, abriu-se a placa de Petri e, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi retirada uma pequena quantidade do ativo, a qual foi adicionada suavemente sobre as colônias fúngicas presentes no meio. Posteriormente, as placas foram novamente fechadas e encaminhadas à estufa, onde permaneceram incubadas. Após o período de sete dias decorridos desde a semeadura, as placas foram retiradas da estufa para a realização das análises microbiológicas subsequentes, permitindo a avaliação do crescimento e da ação do ativo sobre as colônias fúngicas. Por fim, realizou-se a etapa de gravimetria de precipitação. Inicialmente, foi tarada uma placa de Petri juntamente com um papel de filtro seco, os quais seriam utilizados posteriormente como suporte para o precipitado e sua pesagem. Em seguida, foi preparada uma solução de 50 mL de sulfato de cobre (CuSO_4) a $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e separaram-se 50 mL do extrato obtido a partir das folhas de tomateiro. Posteriormente, o pH da solução contendo o extrato foi ajustado até aproximadamente 5, caracterizando um meio levemente ácido. Após esse ajuste, adicionou-se a solução de sulfato de cobre ao extrato, promovendo a formação de um precipitado insolúvel, sendo a mistura mantida em repouso por 5 minutos para completa formação do precipitado. Durante o tempo de repouso da solução, foi montado o sistema de filtração simples e, decorrido esse período, procedeu-se à filtração, ficando o precipitado retido no papel de filtro previamente tarado, disposto sobre a placa de Petri também já tarada. O conjunto formado pela placa de Petri, papel de filtro e precipitado foi então levado à estufa a 120°C por um período de 3 horas, com o objetivo de promover a completa secagem do material. Após esse tempo, o conjunto foi transferido para um dessecador, onde permaneceu até atingir a temperatura ambiente. Por fim, realizou-se a pesagem do conjunto, permitindo a determinação da massa do precipitado por diferença.

8.RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após o preparo do biopesticida, foram feitas as seguintes análises: Medição do pH; Testes microbiológicos; Gravimetria de precipitação. O objetivo a ser alcançado com essas análises e testes foi de mostrar os aspectos químicos e microbiológicos da amostra. Dessa forma, é importante discutir cada resultado encontrado.

O pH aferido com o pHmetro (Figura 1) foi de 5.77, em temperatura ambiente e pressão de 1 atm, o que é plausível para um extrato vegetal que irá ser utilizado em plantações. A respeito disso, é recomendável que biopesticidas a serem utilizados em lavouras, tenham um pH entre 4 e 7 (KORDY; et.al, 2025). Sendo assim, a amostra obteve um resultado favorável.

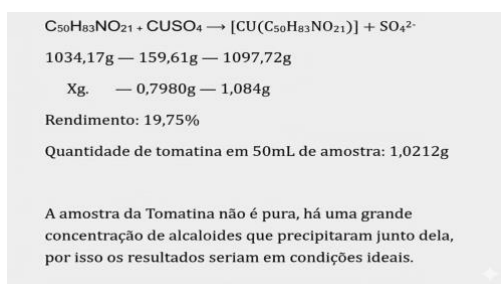
Figura 1- Aferição do pH.



Fonte: Autoria própria, 2025

A análise de gravimetria de precipitação tinha como intuito quantificar alcaloides no geral e a α -tomatina, substância responsável pela ação contra os fitonematoides e fungos. O resultado obtido foi de 1,0212g de α -tomatina em 50mL de amostra. Além disso, o rendimento teórico do processo foi de 19,75% (como demonstrado na figura 2) sendo este o resultado desejado. No entanto, devido o método de extração não isolar somente a α -tomatina mas também outros alcaloides no geral, a concentração de α -tomatina no biopesticida é relativamente pequena, sendo necessário o aprimoramento dos processos utilizados para um resultado mais satisfatório.

Figura 2 -Cálculos da análise de gravimetria de precipitação



Fonte: Autoria própria, 2025

Os testes microbiológicos demonstraram a eficácia do biopesticida à base de tomate. Como pode ser observado nas Figuras 3, houve menor crescimento fúngico na placa de Petri onde foi adicionado os ICPs, enquanto a colônia mostrada na Figura 4 apresentou maior proliferação fúngica, onde não havia a presença dos ICP's. Com base nesses resultados, pode-se afirmar que a formulação apresentou atividade antifúngica nas condições testadas.

Figura 3- Placa de fungos com a aplicação do biopesticida.



Fonte: Autoria própria, 2025

Figura 4-Placa de Petri sem a aplicação do biopesticida.



Fonte: Autoria própria, 2025

9.CONCLUSÃO

O desenvolvimento do biopesticida à base de folhas de *Solanum lycopersicum* demonstrou que os compostos presentes no tomateiro, especialmente os inibidores de carboxipeptidase e alcaloides como a α -tomatina, possuem potencial real para aplicação no manejo sustentável de fitonematoides e microrganismos fitopatogênicos. As etapas experimentais realizadas forneceram evidências de que o extrato obtido apresenta atividade antifúngica mensurável e compatível com o uso agrícola em formulações de baixo impacto ambiental.

Os resultados microbiológicos mostraram redução significativa do crescimento fúngico nas placas tratadas com o extrato vegetal, reforçando a capacidade de inibição atribuída aos compostos bioativos da planta. Do ponto de vista químico, o pH manteve-se dentro da faixa recomendada para aplicações agrícolas, enquanto a quantificação de α -tomatina e o rendimento do processo revelaram que, embora o método empregado extraia alcaloides de forma eficiente, há necessidade de aprimoramento das técnicas de purificação para aumentar a seletividade e a concentração dos ICPs.

O conjunto dos dados obtidos confirma a viabilidade inicial da formulação proposta e evidencia que biopesticidas derivados de plantas da família *Solanaceae* representam uma alternativa promissora aos pesticidas convencionais. Além de reduzirem riscos ambientais e toxicológicos, tais extratos podem se tornar soluções acessíveis para pequenos e médios produtores, fortalecendo práticas agrícolas sustentáveis e contribuindo para o enfrentamento dos impactos causados por fitonematoides em diversas culturas.

Apesar dos resultados positivos, recomenda-se a continuação desta pesquisa com métodos de extração mais avançados, ensaios microbiológicos controlados incluindo diferentes espécies de patógenos, análises cromatográficas e testes em condições reais de cultivo. Assim, será possível validar a eficácia do biopesticida em larga escala e aperfeiçoar sua aplicabilidade no manejo agroecológico. Desse modo, este trabalho representa um passo fundamental rumo ao desenvolvimento de alternativas naturais, eficientes e ambientalmente seguras para o controle de pragas agrícolas.

10.REFERÊNCIAS

ALVES, Sydney Hartz et al. Utilização do ágar suco de tomate (ágar V8) na identificação presuntiva de *Candida dubliniensis*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 39, n. 1, p. 91–93, fev. 2006. Disponível em: SciELO Brasil. Acesso em: 02 ago. 2025;

BERNARDES. Bactéria tem potencial como biopesticida para combater fungos que atacam alimentos. *Jornal da USP*, São Paulo, 18 out. 2023. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/bacteria-tem-potencial-como-biopesticida-para-combater-fungos-que-atacam-alimentos/>. Acesso em: 30 jul. 2025;

BRUNETON, J. *Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinais*. 3. ed. Paris: Tec & Doc, 2006;

CASA E JARDIM. 12 doenças que podem ser causadas por agrotóxicos. Disponível em: <https://revistacasaejardim.globo.com/Casa-e-Comida/noticia/2018/08/12-doencas-que-podem-ser-causadas-por-agrotoxicos.html>. Acesso em: 20 maio 2025;

COSTA, L. M. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos brutos de espécies vegetais da caatinga. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 17, n. 4, p. 1003-1010, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/273357698_Compostos_bioativos_e_atividade_antioxidante_de_extratos_brutos_de_especies_vegetais_da_caatinga. Acesso em: 19 maio 2025;

COYNE, D. L.; NICOL, J. M.; CLAUDIUS-COLE, A. O. *Practical plant nematology: a field and laboratory guide*. 2. ed. Ibadan, Nigéria: International Institute of Tropical Agriculture (IITA), 2018;

CUNHA, L. C. et al. Estudo comparativo de diferentes métodos de extração de compostos bioativos de PANC. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 17, p. e190101724210, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/24210/21480/289927>. Acesso em: 19 maio 2025;

DONG, L.; ZHANG, S. Toxicity and environmental risks of chemical nematicides. *Journal of Nematology*, v. 38, n. 2, p. 123–130, 2006;

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa). Rede de Socioeconomia da Agricultura da Embrapa aponta transformações no emprego na agricultura. *Embrapa Notícias*, Brasília, 27 fev. 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/98788126/rede-de-socioeconomia-da-embrapa-aponta-transformacoes-no-emprego-na-agricultura>. Acesso em: 30 jul. 2025;

FERREIRA, M. E.; GENTIL, D. F. O. *Princípios da cultura de tecidos vegetais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/546466/1/doc58.pdf>. Acesso em: 19 maio 2025;

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. *Nematologia de plantas: fundamentos e aplicações*. Brasília: Embrapa, 2016;

FRIEDMAN, M. Tomato glycoalkaloids: Role in the plant and in the diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 21, p. 5751–5780, 2002;

GOMES, G. S. *Potencial biotecnológico de inibidores de carboxipeptidase [...] para controle de fitopatógenos*. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, 2023;

INSTITUTO BRASILEIRO DE DEFESA DO CONSUMIDOR (IDEC). Agrotóxicos no Brasil: seus impactos na saúde humana e ambiental. Disponível em: <https://idec.org.br/dicas-e-direitos/agrotoxicos-no-brasil-seus-impactos-na-saude-humana-e-ambiental>. Acesso em: 20 maio 2025;

JACINTHO. Agronegócio emprega mais de 28 milhões de brasileiros. *Forbes Agro*, 11 ago. 2023. Disponível em: <https://forbes.com.br/forbesagro/2023/08/agronegocio-emprega-mais-de-28-milhoes-de-brasileiros/>. Acesso em: 17 ago. 2025;

KAYSER, Melissa. *Preparo de meios de cultura*. IFSC, 2023. Disponível em: [https://docente.ifsc.edu.br/melissa.kayser/MaterialDidatico/Microbiologia/Aula%](https://docente.ifsc.edu.br/melissa.kayser/MaterialDidatico/Microbiologia/Aula%20de%20Preparo%20de%20Meios%20de%20Cultura)

205.1%20Preparo%20de%20Meios%20de%20Cultura.pdf. Acesso em: 02 ago. 2025;

MAScarin et al. CRISPR-Cas9-mediated enhancement of *Beauveria bassiana* virulence with overproduction of oosporein. *Fungal Biology and Biotechnology*, v. 11, art. 21, 21 nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40694-024-00190-5>. Acesso em: 30 jul. 2025;

MATOS, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental*. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009;

PIGNATI, W. A. et al. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 22, n. 10, p. 3281-3293, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/SZjNwV7qbqQmknhbjnMLGZw/>. Acesso em: 20 maio 2025;

SILVA, M. T.; FERREIRA, J. P.; SANTOS, P. R. Manejo sustentável de fitonematoides. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 16, n. 2, p. 45–54, 2021;

SILVA, R. A.; OLIVEIRA, C. M. G.; MOITA, A. W. Efeito de nematoides-das-galhas na cultura do tomateiro. *Nematologia Brasileira*, v. 39, n. 3, p. 199–206, 2015;

SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017;

SOUSA, M. S. F. Criopreservação de sementes vegetais: uma revisão. *XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica*, 2010. Disponível em: https://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2017/anais/arquivos/RE_0394_0465_01.pdf. Acesso em: 19 maio 2025;

SP LABOR. Guia completo sobre meio de cultura para fungos. *Blog SP Labor*, 16 nov. 2023. Disponível em: <https://www.splabor.com.br/blog/guia-do-comprador/guia-completo-sobre-meio-de-cultura-para-fungos>. Acesso em: 02 ago. 2025;