



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Urutaí
Programa de Pós-Graduação em Conservação de
Recursos Naturais do Cerrado

**LAPACHOL: UM ESTUDO SOBRE A INIBIÇÃO
DO CRESCIMENTO DE FUNGOS
FITOPATOGÊNICOS E INTERAÇÕES COM A
RIZOSFERA**

**APRESENTADA AO PPG-CRENAC IF GOIANO - CAMPUS
URUTAÍ**

GINANDRYA RODRIGUES ARAUJO

Orientador: Prof. Dr. Anderson Oliveira Latini

Coorientador: Prof. Dr. Miquéias Ferreira Gomes

Coorientadora: Profa. Dra. Cristiane Alcântara dos Santos

Urutaí, Fevereiro de 2024



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano

Reitor

Prof. Dr. Elias de Pádua Monteiro

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação e Inovação

Prof. Dr. Alan Carlos da Costa

Campus Urutaí

Diretor Geral

Prof. Dr. Paulo César Ribeiro Cunha

Diretor de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

Prof. Dr. Anderson Rodrigo da Silva

Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado

Coordenador

Prof. Dra. Débora Astoni Moreira

Urutaí, Fevereiro de 2024

GINANDRYA RODRIGUES ARAUJO

**LAPACHOL: UM ESTUDO SOBRE A INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO
DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E INTERAÇÕES COM A
RIZOSFERA**

APRESENTADA NO PPG-CRENAC – IF GOIANO – CAMPUS URUTAÍ

Orientador

Prof. Dr. Anderson Oliveira Latini

Coorientador

Prof. Dr. Miquéias Ferreira Gomes

Coorientadora

Profa. Dra. Cristiane Alcântara dos Santos

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano –
Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais
do Cerrado para obtenção do título de Mestre.

Urutaí (GO)

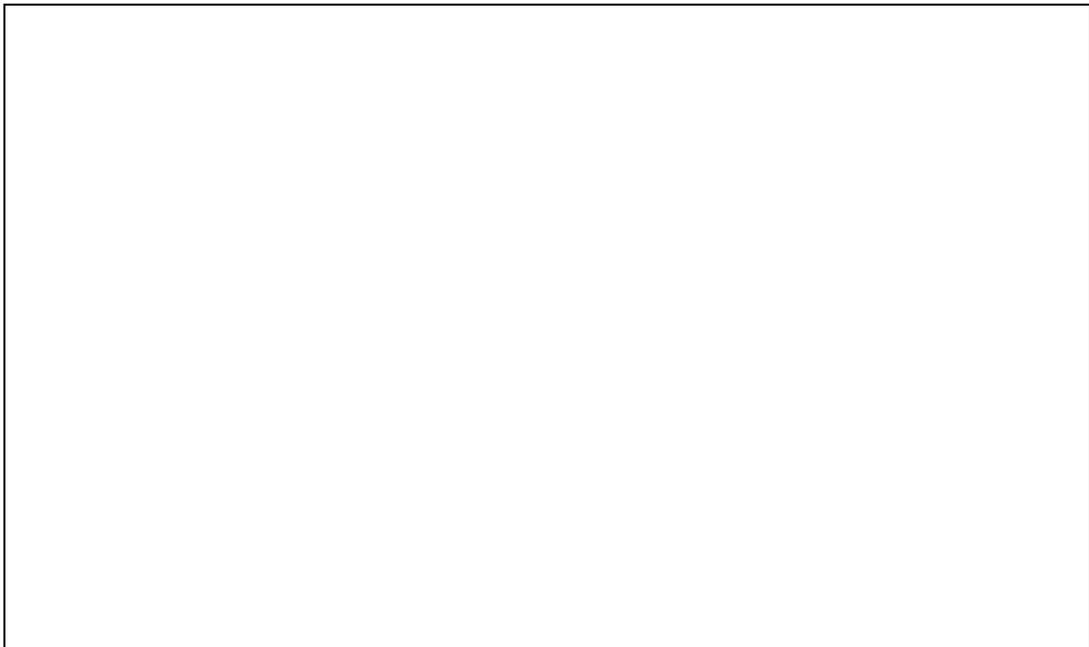
2024

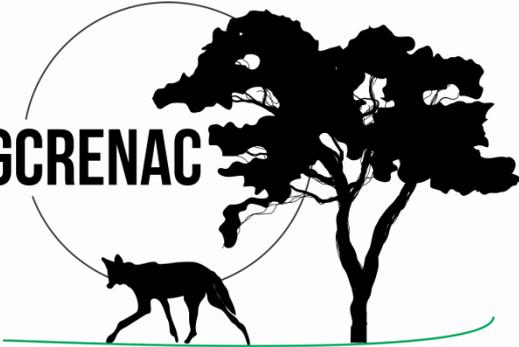
Os direitos de tradução e reprodução reservados.

Nenhuma parte desta publicação poderá ser gravada, armazenada em sistemas eletrônicos, fotocopiada ou reproduzida por meios mecânicos ou eletrônicos ou utilizada sem a observância das normas de direito autoral.

ISSN XX-XXX-XXX

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIB/IF Goiano





PPGRENAC

Programa de Pós-Graduação em Conservação de
Recursos Naturais do Cerrado

FICHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Título da dissertação:	Lapachol: Um estudo inibição do crescimento de fungos fitopatogênicos e interações com a rizosfera
Orientador:	Prof. Dr. Anderson Oliveira Latini
Coorientador:	Prof. Dr. Miquéias Ferreira Gomes
Coorientadora:	Profa. Dra. Cristiane Alcântara do Santos
Autora:	Ginandrya Rodrigues Araujo

Dissertação de Mestrado **APROVADA** em 26 de Fevereiro de 2024, como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS DO CERRADO**, pela Banca Examinadora especificada a seguir.

Prof. Dr Anderson Oliveira Latini
Orientador, UFSJ – Campus Sete Lagoas
Presidente

Prof. Dr. Milton Luiz da Paz Lima
IF Goiano – Campus Urutaí
Membro titular

Prof. Dr. Herbert Júnior Dias
IF Goiano – Campus Urutaí
Membro titular

Prof. Dr. Leonardo Lucas Carnevalli Dias
UFSJ – Campus Sete Lagoas
Membro titular

*“A ciência nunca resolve um problema
sem criar pelo menos outros dez.”
(George Bernard Shaw)*

AGRADECIMENTOS

De início digo que tudo por aqui é sobre meu momento. Entregar esse trabalho lindo é a prova de que eu consigo, e contei com pessoas que sofreram, perderam os cabelos, puxaram minha orelha e sorriram junto comigo.

Aqueles que me orientaram: Anderson Latini, o meu muito obrigada por ter me aceitado como orientanda quando ninguém mais queria, fazendo disso tudo uma realidade. Obrigada por ser tão empolgado, pelo empenho em fazer desse trabalho algo grande. Miquéias Gomes, o que segurou a barra de aturar meus surtos, me escutou mesmo quando as palavras a serem ditas eram as mesmas, a pessoa que não quis saber apenas dos resultados, mas que se preocupou em como a Ginandrya estava, que acreditou quando nem eu acreditava mais. Pois saiba que você foi meu cérebro quando o meu falhou. Cristiane Alcântara, o quão prazeroso foi te conhecer, partilhar pequenos e intensos momentos, obrigada pela generosidade, paciência e tão incrível comigo e com este trabalho. Jamais esquecerei as palavras que me disse em frente à mesa cheia de placas de Petri. Saiba que você foi a alma de todo esse trabalho e a minha também.

Minha mãezinha que mesmo sem entender nada se esforçou pra me ajudar da forma como podia, segurou minha mão mesmo de longe e me cobrou dia e noite ao mesmo passo que dizia sempre o quão orgulhosa estava de mim, me chamando de Guerreira. Pois saiba mãe que você foi minha força. Natani Reis, a amiga que segurou a peteca junto comigo, me ergueu, me cuidou de longe, me corrigiu, puxou minha orelha nos momentos que mais precisei. E assim fez esse trabalho ter um fim. Pois saiba que você foi meu coração, sempre me lembrando o quanto eu amo o que faço. Aos meus familiares e grandes amigos que estiveram comigo em diferentes fases sempre ao meu lado, esse espaço dedico à vocês e todos que foram meu céu, meu chão e não deixaram meu barco naufragar em alto mar.

Liviane Diniz, Diego Maia, Samuel Fellipe, Gustavo Campos e todo pessoal que me ajudou em laboratório aqui fica o meu eterno agradecimento, por terem me acolhido, ensinado, segurado minha mão e ajudado do início ao fim, vocês fazem parte disso.

Obrigada ao IF Goiano, a UFSJ e os laboratórios de Sementes, Microbiologia e Química, e a Capes por me permitirem criar e realizar um sonho durante esse tempo.

DEUS pela oportunidade de viver isso rodeada por pessoas tão maravilhosas.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – ARTIGO 1	13
APLICAÇÃO DO LAPACHOL NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS	13
RESUMO	13
ABSTRACT	14
Keywords: Naphthoquinones; Antifungal; <i>Trichoderma</i> sp.; Biotransformations.	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.1 Obtenção do lapachol.....	17
2.2 Caracterização do lapachol.....	17
2.3 Seleção dos Fungos	18
2.4 Ensaio microbiológico in vitro.....	19
2.5 Análises Estatísticas	21
3. RESULTADOS e DISCUSSÃO	21
3.1 Extração e caracterização do lapachol.....	21
3.2 Influência do lapachol sobre os fungos.	24
4. DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÃO.....	35
6. REFERENCIAS	35
7. ANEXOS.....	40
7.1 - RMN ¹ H do Lapachol realizado em CD ₂ Cl ₂ (400MHz).	40
7.2 – RMN ¹³ C do Lapachol realizado em CD ₂ Cl ₂ (400MHz).	42
CAPÍTULO 2 – ARTIGO 2	44
INTERAÇÃO COM MICROORGANISMOS E DEGRADAÇÃO DO LAPACHOL EM LATOSSÓLOS DE TEXTURA MÉDIA, ARGILOSA E ARENOSA	44
RESUMO	44
ABSTRACT	45
1. INTRODUÇÃO.....	xlvi
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	xlviii
2.1 Obtenção do lapachol.....	xlviii
2.2 Coleta dos solos.....	xliv
2.3 Respirometria	li
2.4 Análise Estatística	liii
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	liii

3.1	Extração do lapachol	liii
3.2	Respirometria	lv
4.	DISCUSSÃO	lviii
5.	CONCLUSÃO	lxi
6.	REFERÊNCIAS	lxi
	ANEXOS	lxv

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS E TABELAS

Figura 1 – Reação de basificação em solução de carbonato de sódio. _____	22
Figura 2 – Momento de acidificação em solução de ácido clorídrico. _____	22
Figura 3 – Extração do lapachol, sendo (A) etapa de filtração e (B) precipitação do lapachol após adição da solução de HCl. _____	23
Figura 4 – Recristalização do lapachol obtido, sendo (A) cristais de lapachol, e (B) lapachol obtido após todo o procedimento de extração. _____	23
Figura 5 – Cromatograma HPLC do lapachol. _____	24
Figura 6 – Meio BDA elucidando a presença do lapachol, após evaporação do diclorometano. _____	25
Figura 7 – Formas de crescimento do fitopatógeno <i>Trichoderma harzianum</i> _____	25
Figura 8 – Crescimento relativo de micélio dos fungos estudados em meio com e sem lapachol para os três fungos estudados. _____	26
Figura 9 – Apresentação do crescimento de micélios de colônias de <i>C. fragariae</i> . Em 9A, no eixo X, BDA indica o meio de cultura sem a presença de lapachol e as medidas 1000 μ L, 750 μ L, 500 μ L e 250 μ L representam as dosagens de lapachol nos tratamentos experimentais. Em 9B, no eixo X, são apresentadas as leituras de crescimento no terceiro, quinto e sétimo dia de experimento. Finalmente, em 9C, é apresentado o crescimento de micélio para BDA e demais tratamentos em cada dia de leitura, ou seja, a figura com resultados da interação entre os dois fatores. Para as três figuras, a medida central ilustra a média e a medida de dispersão ilustra o intervalo de confiança de 95% dos tratamentos. A sobreposição de um intervalo de confiança de 95% de um tratamento sobre a média de outro tratamento, ilustra igualdade estatística entre eles. _____	28
Figura 10 - Apresentação do crescimento de micélios de colônias de <i>F. oxysporum</i> . Em 10A, no eixo X, BDA indica o meio de cultura sem a presença de lapachol e as medidas 1000 μ L, 750 μ L, 500 μ L e 250 μ L representam as dosagens de lapachol nos tratamentos experimentais. Em 10B, no eixo X, são apresentadas as leituras de crescimento no primeiro, terceiro, quinto e sétimo dia de experimento. Finalmente, em 10C, é apresentada a interação entre o crescimento de micélio para BDA e demais tratamentos com o tempo, em quatro dias de leitura. Para as três figuras, a medida central ilustra a média e a medida de dispersão ilustra o intervalo de confiança de 95% dos tratamentos. A sobreposição de um intervalo de confiança de 95% de um tratamento sobre a média de outro tratamento, ilustra igualdade estatística entre eles. _____	29
Figura 11 – Apresentação do crescimento de micélios de colônias de <i>T. harzianum</i> . Em 11A, no eixo X, BDA indica o meio de cultura sem a presença de lapachol e as medidas 1000 μ L, 750 μ L, 500 μ L e 250 μ L representam as dosagens de lapachol nos tratamentos experimentais. Em 11B, no eixo X, são apresentadas as leituras de crescimento no primeiro e terceiro dia de experimento. Em 11C é apresentada a interação entre o crescimento de micélio para BDA e demais tratamentos com o tempo, em dois dias de leitura. Para as três figuras, a medida central ilustra a média e a medida de dispersão ilustra o intervalo de confiança de 95% dos tratamentos. A sobreposição de um intervalo de confiança de 95% de um tratamento sobre a média de outro tratamento, ilustra igualdade estatística entre eles. _____	30
Figura 12 - Localização da Fazenda Palmital em Urutaí, GO, onde foi coletado galho de ipê-roxo. Em 12A, uma visão geral do município e do campus. Em 12B, a posição exata em que se encontra a planta utilizada para a extração do cerne e obtenção do lapachol. _____	xlix

- Figura 13** - Localização das regiões de obtenção das amostras de solo. Em A, localização da Fazenda Tereza (marcador vermelho) e da Fazenda Santo Antônio (marcador azul). Em B, localização da Área de Pivô, no IF-GO. _____ l
- Figura 14** – Localização dos pontos de coleta fazenda St. Antônio. _____ l
- Figura 15** - Localização dos pontos de coleta na Fazenda Tereza. _____ li
- Figura 16** - Frascos experimentais montados. Em A, visão geral do experimento, em B, adição do lapachol ao solo, em C, ilustração do posicionamento dos béqueres. _____ lii
- Figura 17** - Reação 1 Ácido base: Momento de ionização do lapachol (1) em solução de carbonato de sódio. _____ liv
- Figura 18** - Reação 2 Ácido base: Momento da protonação e desprotonação do lapachol. liv
- Figura 19** - Serragem em solução 1% de carbonato de sódio Na_2CO_3 (A); Solução extratora após 24h (B); Solução acidificada HCl 6 mol L^{-1} e decantação de fase sólida (C); Evaporação de diclorometano e recristalização do lapachol (D); Produto final (E). _____ lv
- Figura 20** - Carbono total (C_{total} 51) obtido para os solos estudados. Em A, solos arenosos sem (Arenoso) e com lapachol (Arenoso +); em B, solos argilosos sem (Argiloso) e com lapachol (Argiloso +); em C, solos médios sem (Médio) e com lapachol (Médio +). As medidas de variação representam o intervalo de confiança de 95% (IC95%) e a sobreposição do intervalo de um tratamento sobre a média de outro tratamento, representa igualdade estatística. _____ lvi
- Figura 21** - Carbono aferido para solo de textura argilosa (A), solo de textura arenosa (B) e solo de textura média (C) com a presença de lapachol, linhas em vermelho, e sem o lapachol, linhas em azul. As medidas de variação representam o intervalo de confiança de 95% (IC95%) e a sobreposição do intervalo de um tratamento sobre a média de outro tratamento, representa igualdade estatística. _____ lviii
- Tabela 1** - Tabela de dados de atribuição para RMN de ^1H __ **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 2** - Tabela de dados de atribuição para RMN ^{13}C ____ **Erro! Indicador não definido.**

APLICAÇÃO DO LAPACHOL NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

RESUMO

O lapachol é um composto orgânico natural, que pode ser isolado de várias espécies de plantas, mas com concentrações maiores vindas principalmente do cerne do Ipê roxo. Sendo este um dos mais versáteis compostos biologicamente ativos, conhecido devido a inúmeras propriedades anticancerígena, antiinflamatória, analgésica, antibiótica, antimalária e antiulcerogênica, vem sendo também estudado por suas propriedades antifúngicas contra uma ampla gama de espécies, incluindo aquelas resistentes a antifúngicos convencionais. Nesse contexto o presente trabalho realizou extração e caracterização do lapachol, obtendo um produto puro e posteriormente avaliou a ação inibitória do lapachol sobre os fungos fitopatogênicos *Colletotrichum fragariae* e *Fusarium oxysporum* além de *Trichoderma harzianum* em um ensaio microbiológico *in vitro*. Os resultados indicaram que o lapachol foi capaz de inibir o crescimento dos fungos estudados, com diferentes níveis de inibição para cada espécie. Para *C. fragariae*, a inibição chegou a 34%, podendo constituir modo de controle na lavoura. Para *F. oxysporum*, a inibição não ultrapassou 14%, podendo ater a eficiência de uso do lapachol ao uso de manejo integrado. Já para *T. harzianum* a inibição chegou a 50%, o que é relevante já que este organismo é usado em controle biológico dos dois primeiros. Conclui-se que o lapachol apresenta potencial inibitório *in vitro* para o crescimento de fungos fitopatogênicos em cultivos agrícolas, mas sua ação inibitória em *T. harzianum* pode necessitar de uma avaliação mais aprofundada. Além disso, utilizar o lapachol significa reduzir o uso de fungicidas sintéticos e aumentar a promoção de práticas sustentáveis na agricultura, otimizando o manejo consciente e menos agressivo nos agroecossistemas.

Palavras-chave: Naftoquinonas; Antifúngico; *Trichoderma* sp.; Biotransformações.

ABSTRACT

Lapachol is a natural organic compound that can be isolated from various plant species, but with higher concentrations mainly found in the heartwood of ipê roxo. It is one of the most versatile biologically active compounds known for its numerous properties, including anticancer, anti-inflammatory, analgesic, antibiotic, antimalarial, and antiulcerogenic effects. It has also been studied for its antifungal properties against a wide range of species, including those resistant to conventional antifungal agents. In this context, the present study extracted and characterized lapachol to obtain a pure product and subsequently evaluated its inhibitory action on the phytopathogenic fungi *Colletotrichum fragariae* and *Fusarium oxysporum*, as well as *Trichoderma harzianum*, using an in vitro microbiological assay. The results indicated that lapachol inhibited the growth of the studied fungi, with varying levels of inhibition for each species. For *C. fragariae*, inhibition reached 34%, suggesting a potential control method for agriculture. For *F. oxysporum*, inhibition did not exceed 14%, which may limit the efficiency of lapachol use in integrated management practices. However, for *T. harzianum*, the inhibition reached 50%, which is significant because this organism is used for the biological control of the former two fungi. It can be concluded that lapachol has in vitro inhibitory potential for the growth of phytopathogenic fungi in agricultural crops, but its inhibitory action with *T. harzianum* may require further evaluation. Additionally, utilizing lapachol reduces the use of synthetic fungicides and promotes sustainable agricultural practices, optimizing conscientious and less aggressive management in agroecosystems.

Keywords: Naphthoquinones; Antifungal; *Trichoderma* sp.; Biotransformations.

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é um dos principais biomas brasileiros e caracteriza-se por uma estação seca bem definida e diversidade de espécies adaptadas a incêndios naturais recorrentes. Com área total de 2 milhões de km², compreende uma região crítica para o desenvolvimento socioeconômico do país e prioritária para a conservação da biodiversidade e de recursos hídricos (CAMPOS & CHAVES, 2020).

Faz parte dessa biodiversidade o ipê ou, também conhecido como pau d'arco, peúva, ipeúna, entre outros nomes (GONÇALVES, et al., 2022). Pertence à família Bignoniaceae, que possui aproximadamente 120 gêneros e 800 espécies. O maior gênero pertencente a esta família é a *Tabebuia* ou *Handroanthus* (exclusivo para representar as espécies existentes no Brasil), encontrado com uma grande diversidade na América do Sul, devido ao seu clima tropical e subtropical (KRAUSE, SERRANO & SCHULTZ, 2022).

A espécie de ipê roxo, *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos, (SILVA, 2019), tem em sua composição uma grande concentração da substância denominada lapachol, representado por 4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-enil)naftaleno-1,2-diona, um composto orgânico natural, derivado da naftoquinona. Entre as naftoquinonas o lapachol é um dos mais versáteis compostos biologicamente ativos, fazendo com que tal composto se torne conhecido devido suas diversas propriedades (HUSSAIN et al., 2012).

Sua utilização surgiu na era pré-colombiana e indígena da tribo Chalaway, que viviam entre o Brasil e Paraguai. Utilizavam a parte interna da casca para tratar diversas enfermidades como: artrose, febre, distúrbios intestinais e circulatórios (FLORIEN, 2016). Os principais efeitos reportados na literatura se devem às características biológicas de ação contra células cancerígenas da atividade antimicrobiana, tripanocida e antifúngicas que o lapachol possui (SOUZA et al., 2008; SOUZA et al., 2013; HUSSAIN et al., 2007).

Nos últimos anos uma crescente de estudos vem sendo dedicada às atividades antifúngicas do lapachol, sendo visto como princípio ativo natural para doenças de plantas em diversos cultivos. Por exemplo, resultados satisfatórios de inibição dos fungos *Fusarium oxysporum* Sherb., *Rhizoctonia solani* Kühn e *Sclerotium rolfsii* Sacc foram obtidos em estudos com alface (SOUZA, 2008). Antunes (2006), também, demonstrou atividades inibidoras para fungos, mas também, resultados promissores sobre micro-organismos. Araújo et al. (2019) observaram resultados significativos de lapachol inibindo o fungo patogênico *S. rolfsii*, um

importante agente fitopatogênico que infecta diversos hospedeiros, acarretando problemas para agricultura no país.

De fato, o lapachol apresenta atividade antifúngica contra uma ampla gama de espécies fúngicas, incluindo aquelas resistentes a antifúngicos convencionais, e é promissor candidato para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos (SANTOS et al., 2019). Por isso, estudos acadêmicos utilizando o lapachol no controle de fitopatógenos vêm se intensificando, também apoiados na ideia de que consistem em um modo de manejo consciente e menos agressivo ao meio ambiente.

Perdas agrícolas provocadas por fitopatógenos comumente consistem em 15% a 20% da produção, mas podem chegar até a 100% em algumas culturas (SILVA, 2019). Além dos fitopatógenos poderem sobreviver na ausência da planta hospedeira por um grande período de tempo (ANGELOTTI et al., 2017), eles podem ser transportados e introduzidos na lavoura, através das próprias sementes (MARIN-MENGUIANO et al., 2019). O método mais utilizado de proteção das plantas é o uso de fungicidas sintéticos. Porém, seu uso excessivo, seus elevados custos financeiros, os resíduos encontrados nas plantas por desobediências aos prazos de carência e também o desenvolvimento de insensibilidade a moléculas (sítios específicos), têm evidenciado sua desvantagem para a saúde humana, animal e ao meio ambiente (TORRES-RODRIGUEZ et al., 2021).

Desta forma, atividades sustentáveis de manejo, incluindo o menor uso de controle químico e o maior uso de produtos à base de extratos vegetais têm sido promissoras à melhoria da saúde do agricultor e do consumidor final (CASTRO, et al., 2020). Metabolitos especiais presentes nestes extratos como álcoois, aldeídos, fenólicos, terpenos e cetonas, garantem funções inseticidas, antibacterianas, antifúngicas e antivirais desejáveis (SARTORELLI et al., 2007; CHANG et al., 2022; MASWADA & ABDALLAH, 2013), aumentando a eficiência ecológica e econômica da produção de alimentos, posicionando-os como alternativa aos fungicidas sintéticos de uso global.

Utilizando-se lapachol, o presente trabalho avaliou a ação inibitória do desenvolvimento vegetativo de *Colletotrichum fragariae* Brooks. e *Fusarium oxysporum* que causam danos à diversas lavouras do país e do fungo *Trichoderma harzianum* Rifai que auxilia no controle biológico de fungos patogênicos. Com tal avaliação, esperou-se propor um controle natural daqueles fitopatogênicos e conhecer os possíveis efeitos antagônicos sobre o fungo benéfico. Assim, testou-se a hipótese de que o crescimento micelial de *C. fragariae*, *F. oxysporum* e *T. harzianum* reduzem com o aumento de concentração de lapachol no meio de cultura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do lapachol

O cerne do ipê roxo foi obtido por poda de um galho da árvore localizada nas dependências do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí (Fazenda Palmital - Zona Rural, coordenadas 17° 29' 53.714" S, 48° 13' 8.969" E, Urutaí - GO). Será produzida uma excisata botânica com informações de local, data, habitat e coletor na próxima primavera para que seja enviada a herbário a fim de se realizar a devida confirmação de identificação e classificação taxonômica do espécime, mas também, para garantir registro permanente. Na carpintaria do Campus o galho obtido passou por esteira de corte evidenciando apenas seu cerne de coloração escura e posteriormente o mesmo passou por triturador de madeira obtendo assim a serragem.

A extração do lapachol foi realizada com base na metodologia proposta por Ferreira (1996), sendo adaptada para extração em grande escala, visando obtenção de maior volume do produto. Cerca de 1,5 kg de serragem foi colocada em barrilete, sendo adicionado a mesma 8 L de solução de concentração 1% (m/v) de carbonato de sódio (Na_2CO_3) garantindo que toda serragem ficasse imersa pela solução e, com auxílio de colher de madeira, foi realizada a mistura/agitação da solução com a serragem, buscando a extração do lapachol.

A agitação foi realizada durante aproximadamente duas horas tendo nesse período intervalos entre agitações de 10 à 15 minutos, e então deixada em repouso durante 24 horas. A solução extratora, de coloração avermelhada, foi então primeiro filtrada em peneira de malha 8, para retirada da serragem e, posteriormente, filtrada em filtro de nylon retirando as demais sujidades presentes na solução. A serragem obtida na filtragem foi novamente submetida a solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) na concentração de 1% (m/v), passando pelo mesmo processo anterior.

Ao filtrado foi adicionado lentamente solução de ácido clorídrico (HCl) 6 mol L^{-1} até que uma coloração amarelada fosse observada, com formação de precipitado, caracterizando completa extração. O precipitado foi recolhido por filtração à vácuo e seco em dessecador. Ao sólido foi adicionado diclorometano, solubilizando o lapachol. A solução foi filtrada retirando as impurezas em suspensão e deixado para evaporação natural a temperatura ambiente.

2.2 Caracterização do lapachol

Para caracterização do lapachol foram utilizadas as análises de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) com espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ^1H e de carbono-13 foram obtidos em espectrômetros Bruker DRX-400. No ^1H -RMN (400 MHz) os

deslocamentos químicos (δ) estão relatados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno, e a multiplicidade indicada como: s = singlete, d = duplete, t = tripleto, q = quadruplete, dd = duplo duplete, m = multiplete.

A constante de acoplamento (J) foi calculada em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios foi deduzido da integral relativa. No ^{13}C -RMN (100 MHz) foram traçados de acordo com a conveniência, utilizando-se as seguintes técnicas: BB – Broadband decoupled spectrum (^{13}C { ^1H } - Carbono Totalmente Desacoplado de Hidrogênio) e DEPT 135 – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.

Para realização de análise de HPLC (High Performance Liquid Chromatography – Cromatografia Líquida de Alta Performance) onde os cromatogramas foram gerados pelo Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu®, modelo LC-6AD, composto por: bombas LC-6AD, desgaseificador DGU-20A5R, forno CTO-20A, coletor de frações FRC-10A, auto-injetor SIL-10AF e detectores de arranjo de diodo (DAD) SPD-M20A e evaporativo por espalhamento de luz (ELSD– evaporative light scattering detector) LT II, obtidos no tempo de 50', com fluxo de 1 mL/min de metanol, em modulo de gradiente binário, à temperatura de 30 °C, feito com injeção manual utilizando coluna Phenomenex (Luna 5u C18 (2) 100 A, 250 x 4.60 mm 5 micon.).

2.3 Seleção dos Fungos

A seleção de fungos foi realizada na Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – Campus Sete Lagoas, MG, considerando fitopatógenos de diferentes culturas produzidas na região entre GO e MG. Tais fungos foram obtidos da coleção de Micro-organismos e Fitopatogênicos da Embrapa Milho e Sorgo, sendo estes, descritos a seguir.

O fitopatógeno *Colletotrichum fragariae* A.N. Brooks. Tem origem agrícola em culturas de morangos. Constitui um grande grupo monofilético de ascomicetos com mais de 200 espécies aceitas (MARIN-FELIX et al., 2017). É responsável pela doença conhecida como antracnose, que afeta folhas, a coroa dos morangos, ocasionando a sintomatologia de “podridão da coroa”. Sua infecção pode causar perdas em frutos de morangos, mas, também causa a antracnose em frutas, legumes, cereais, plantas herbáceas, coníferas, lenhosas e ornamentais, tanto nos estádios vegetativos como reprodutivos (DAMM et al., 2019). Reproduz por meio de conídios assexuados e a sua disseminação pode se dar pelo vento, água, resíduos culturais, sementes infectadas em um ciclo anterior da cultura, tornando-se a principal fonte de inóculo para as safras subsequentes (CARVALHO et al., 2020).

O fitopatógeno *Fusarium oxysporum* Sherb. foi isolado de culturas de milho. Se encontram em todo o planeta, habitando solo, ar, água, plantas e insetos (ABDEL-AZEEM, et al., 2019). Infecta uma ampla variedade de plantas em folhas, caule, raízes e frutos, podendo apresentar diferenças expressivas nas características morfológicas, fisiológicas e ecológicas (SHARMA & MARQUES, 2018). Murcha de *fusarium* ou fusariose, são os nomes dados a doença detectada no campo. Têm estruturas de resistência que permitem a sua sobrevivência por anos, mesmo sem plantios e estas estruturas podem ser transportadas entre áreas agrícolas através do trânsito de pessoas, água, insetos vetores vento, resíduos culturais, máquinas ou sementes. As espécies *Fusarium - graminearum* e *Fusarium - oxysporum* estão entre os cinco principais fungos fitopatogênicos por seu número de hospedeiro e praticidade de causar doença em tecido vivo ou viver em saprofitismo (NIKITIN et al., 2023).

O biocontrolador de fitopatógenos *Trichoderma harzianum* Rifai. Está amplamente distribuído no planeta, desenvolve-se em detritos de colheita ou solo húmico, podendo sobreviver em condições extremas de salinidade e pH, mas, com temperatura ideal entre 25-35 °C (SHAH & AFIYA, 2019). Apresenta micélio septado, é anaeróbio facultativo e se reproduz assexuadamente por conídios. Através de competição, micoparasitismo e antibiose, contribui e é usado na agricultura para o controle de fungos patogênicos, melhoria de atividades fisiológicas de plantas (BHANDARI et al., 2021). Devido à produção de hormônios e solubilizadores de nutrientes, tais como fosfato e micronutrientes que permitem a mineralização e disponibilidade desses minerais inorgânicos para às plantas estimulando assim seu crescimento (MORO, 2018).

Segundo Aguiar (comunicação pessoal, 18 de fevereiro de 2024), os isolados dos três fungos estão disponíveis na EMBRAPA Milho e Sorgo, pelo menos desde o ano de 2015.

2.4 Ensaio microbiológico *in vitro*

O meio composto por batata, dextrose e ágar-ágar (BDA) foi o substrato para isolamento e repicagem dos fungos em condições de laboratório. Para o ensaio foi utilizado o BDA industrial da TM Média, sendo pesado 30 g e adicionado mais 20 g de ágar-ágar puro em Erlenmeyer de 600 mL, completado com água destilada até o menisco e agitado até a sua homogeneização. O Erlenmeyer foi então colocado em autoclave à temperatura de 120 °C, por um período de 20 minutos, para esterilização do meio BDA. Posteriormente foi deixado para resfriar ao ponto de contato com a pele (25 °C) e então vertido em placas de petri.

Para repicagem dos fungos selecionados, em BDA, para obtenção das culturas matrizes a serem inoculadas nas diluições de lapachol foram utilizadas placas de Petri previamente autoclavadas, de dimensões 35 mm de diâmetro por 10 mm de altura, contendo aproximadamente 10 mL de BDA. Nelas foram adicionados filamentos dos fungos em formato de cruz, e reservados para crescimento durante seis dias em BOD a 25 °C. Este processo foi realizado para as três espécies e em triplicatas.

Após as repicagens prontas, o mesmo processo de produção de BDA foi realizado sendo um controle (BDA puro) e meios BDA + lapachol, para cada dosagem de teste. O lapachol foi solubilizado em diclorometano (0,5 g de lapachol para 10 mL de diclorometano). Dentro de capela de fluxo laminar previamente higienizada, as diluições de lapachol foram adicionadas ao meio BDA, com pipeta de precisão de 1000 µL nas dosagens de 1000 µL, 750 µL, 500 µL e 250 µL, nas concentrações de lapachol de 8,33 µg/mL, 6,25 µg/mL, 4,17 µg/mL, 2,08 µg/mL respectivamente, mais um branco com ausência de lapachol, formando grupos de cinco placas de cada dosagem para cada fungo. Todas as dosagens foram vertidas em placas de Petri descartáveis estéreis da J. Prolab Indústria (São José dos Pinhais, PR), na dimensão de 90 x 15 cm, em triplicada.

As placas foram deixadas para secagem e endurecimento na câmara de fluxo laminar por cerca de 5 minutos. Em seguida foi realizada a inserção dos fungos nas placas através do corte peduncular nas matrizes de cada fungo, com auxílio de uma espátula, formando discos de micélio, com 0,5cm de diâmetro, que foram inseridos no centro da placa de análise. Todas as placas foram previamente identificadas com informações sobre o fungo e a dosagem de lapachol.

Após todas as placas estarem corretamente fechadas, foram levadas à câmara de crescimento do tipo BOD e acomodadas de forma aleatória à temperatura constante de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 24 horas, para o registro do crescimento micelial. Os registros do crescimento foram feitos no primeiro, terceiro, quinto e sétimo dia e foram obtidos virando-se as placas para baixo e medindo o diâmetro da colônia formada com uma régua a partir do centro, tanto vertical quanto horizontalmente, para determinar seu diâmetro. Em seguida, foram descontados 0,5 cm, correspondentes ao diâmetro inicial do micélio alocado nas placas. Os resultados consistiram no crescimento micelial aferido em cada placa.

2.5 Análises Estatísticas

Para testar a hipótese deste estudo, foram realizadas Análises de Variâncias *two-way* com medidas repetidas no tempo (ANOVA 2-way) para cada uma das três espécies de fungos estudadas, *C. fragariae*, *F. oxysporum* e *T. harzianum*. Este tipo de análise foi necessário devido à repetição de medidas de crescimento micelial nas mesmas unidades amostrais. Assim, foram utilizados os fatores “dosagem” das soluções de lapachol, sendo elas “BDA puro”, “1000 µL”, “750 µL”, “500 µL” e “250 µL” (cinco níveis) e o “tempo” em que foi medido o crescimento dos micélios, sendo eles o primeiro, terceiro, quinto e sétimo dia (quatro níveis), além da interação entre os dois fatores.

Para cada resultado significativo obtido das ANOVAS, foram feitas comparações *a posteriori* por meio de intervalos de confiança de 95% (IC95%). Tais IC95% foram apresentados em figuras para o crescimento micelial em função dos fatores “dosagem” e “tempo”, além da interação entre ambos. Todas as análises foram feitas considerando o nível de 5% de significância, por meio do uso do software Statistica 64 v.13 (Licença JPZ804I376009FA-9 para o orientador do estudo).

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

3.1 Extração e caracterização do lapachol

A extração do lapachol foi realizada utilizando solução de carbonato de sódio em concentração de 1% (m/v) e agitada durante aproximadamente duas horas tendo nesse período intervalos entre agitações de 10 à 15 minutos, e então deixada em repouso durante 24 horas. O carbonato de sódio é um sal básico, logo, é capaz de desprotonar a hidroxila do lapachol originando a sua espécie iônica que é solúvel em água e possui coloração avermelhada (Figura 1). Após a extração a serragem foi separada por filtração comum utilizando peneira e refiltrada em filtro de nylon (Figura 3 - A).

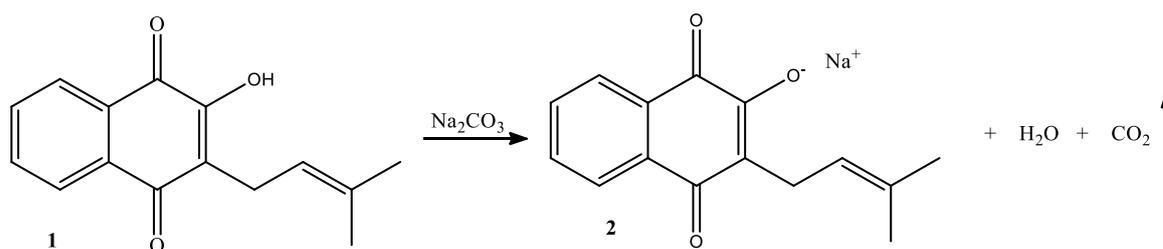


Figura 1 – Reação de basificação em solução de carbonato de sódio.

Em seguida, foi feita a adição da solução de HCl 6 mol L^{-1} até que fosse possível observar a mudança de coloração da solução, passando de avermelhada para um tom amarelado. Quando a solução extratora é acidificada pela solução de HCl , a hidroxila do lapachol é novamente protonada (Figura 2).

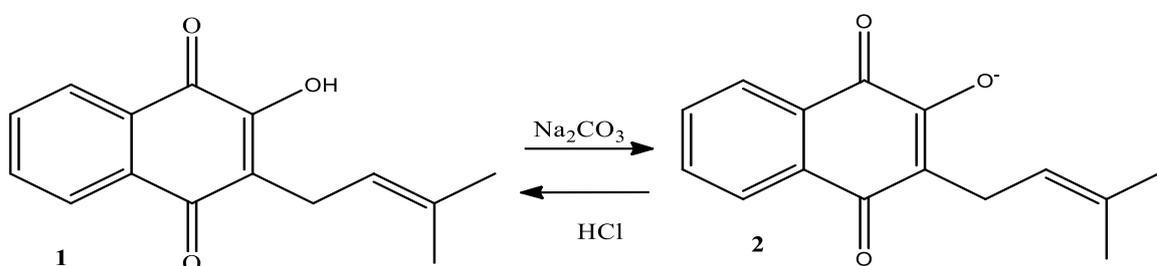


Figura 2 – Momento de acidificação em solução de ácido clorídrico.

Quando o lapachol é protonado torna-se insolúvel em água, apresentando coloração amarelada, portanto a acidificação da solução só foi finalizada quando a coloração amarelada se tornou permanente. Após permanência na coloração a solução foi deixada em repouso para decantação da fase sólida (Figura 3 - B). O sólido amarelo foi separado por filtração a vácuo e seco à temperatura ambiente. Em seguida, foi colocado em diclorometano, onde o lapachol tem alta solubilidade, a solução foi filtrada novamente para retirada de impurezas que não foram solubilizadas. O diclorometano foi evaporado a temperatura ambiente promovendo a recristalização do lapachol (Figura 4).

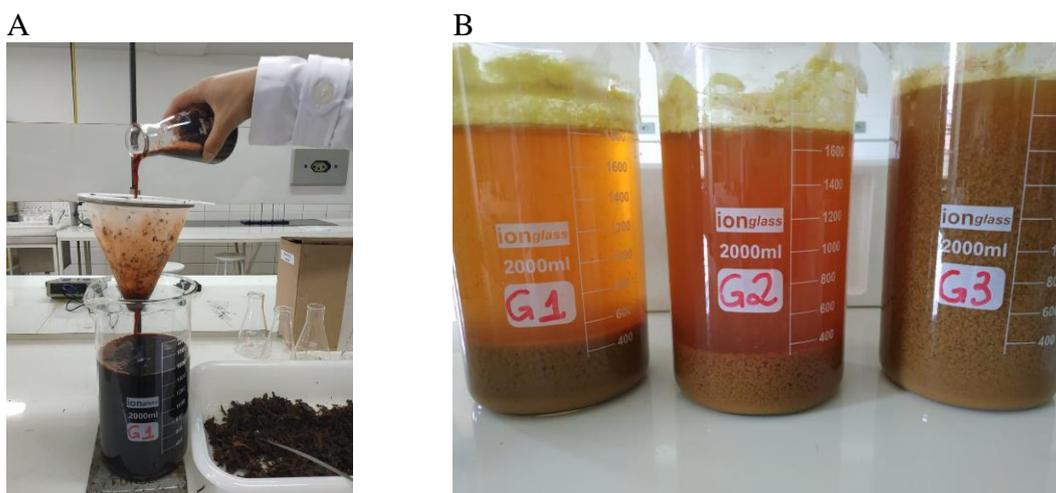


Figura 3 – Extração do lapachol, sendo (A) etapa de filtração e (B) precipitação do lapachol após adição da solução de HCl.

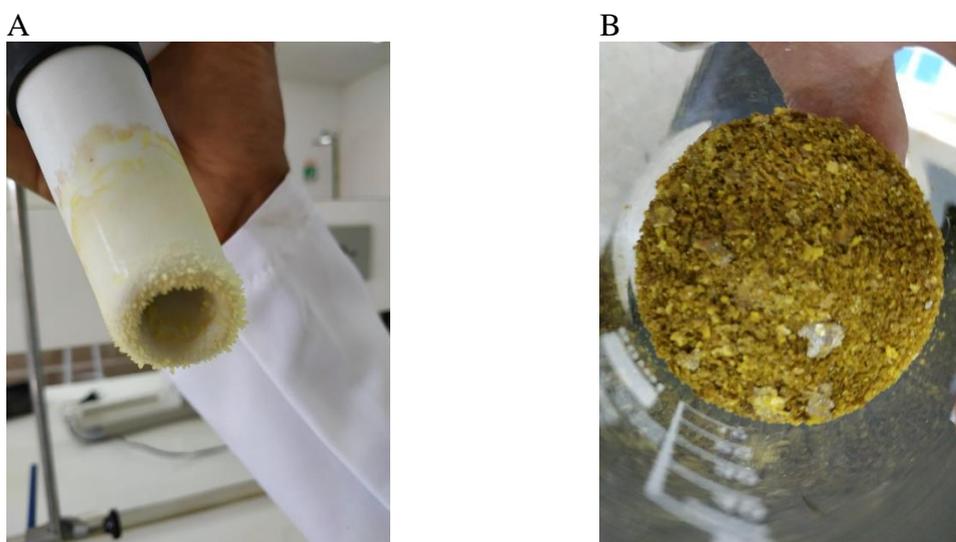


Figura 4 – Recristalização do lapachol obtido, sendo (A) cristais de lapachol, e (B) lapachol obtido após todo o procedimento de extração.

De acordo com o cromatograma de HPLC (Figura 5), é observado pico de retenção no tempo de 35 minutos, atribuído ao lapachol. Nele não é observado nenhum ruído nos picos do cromatograma, indicando pureza da substância obtida.

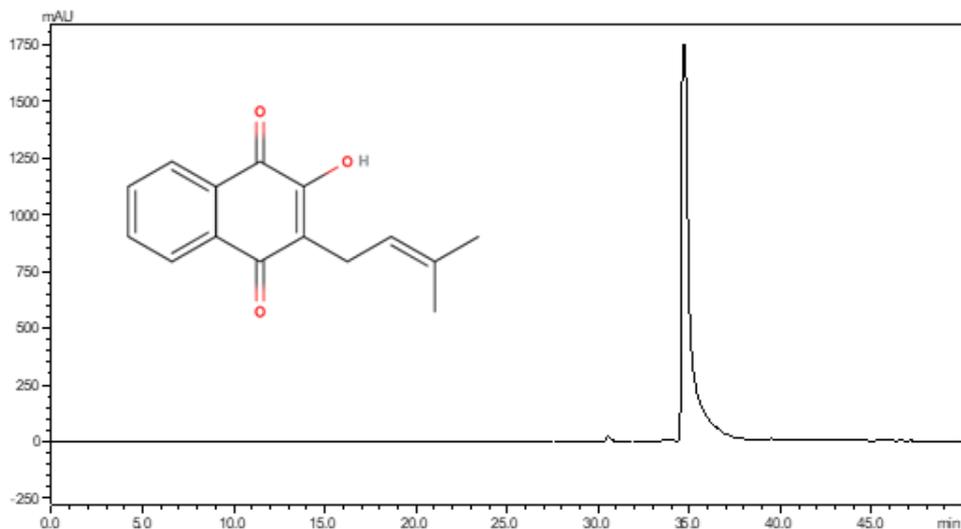


Figura 5 – Cromatograma HPLC do lapachol.

Em análise de RMN os sinais obtidos nos espectros de ^{13}C e ^1H foram registrados a 400 e 100 MHz, respectivamente. Suas atribuições tiveram como base os desvios químicos, em padrões de multiplicidade de ressonâncias de prótons representadas por acoplamentos de J , onde em ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1.61 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 3.23 (d, 2H $J = 7.4$ Hz), 5.13 (tt, ^1H $J = 7.4$, $J = 1.4$ Hz), 7.62 (m, 2H), 7.62 (2H, m) e em ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 17.9, 22.6, 25.7, 119.7, 123.5, 126.0, 126.7, 129.4, 132.8, 132.9, 133.8, 134.8, 152.7, 181.7, 184.5. Todos esses dados podem ser comparados nos Anexos 7.1 e 7.2.

3.2 Influência do lapachol sobre os fungos.

Durante a produção do meio com diluição do lapachol em diclorometano pôde ser observada uma diferença no meio de BDA. O diclorometano se evaporou durante o endurecimento do meio de BDA na placa de Petri, o que tornou visível as partículas de lapachol espalhadas no meio (Figura 6).

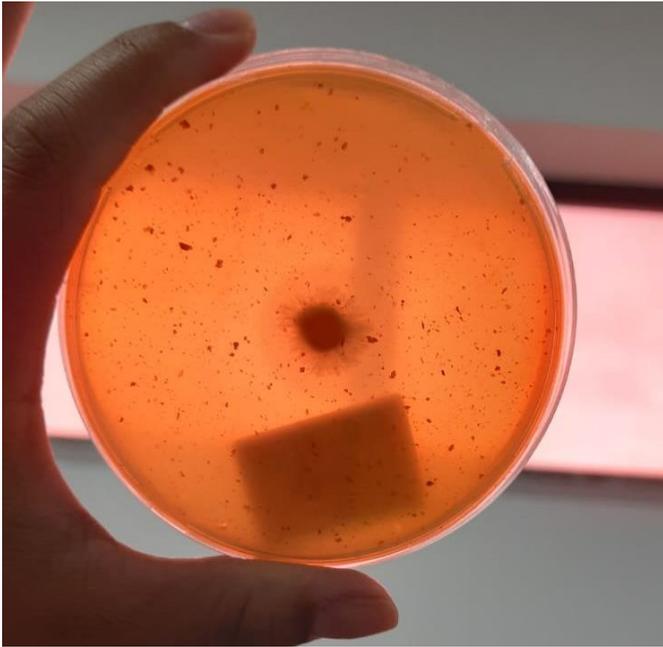


Figura 6 – Meio BDA elucidando a presença do lapachol, após evaporação do diclorometano.

Os fungos estavam em um ambiente propício para o seu desenvolvimento garantindo que não houvesse demais interferências e que apenas o lapachol seria o causador de qualquer inibição desse crescimento.

Para *T. harzianum* ocorreu um crescimento descontínuo (Figura 7) em todas as placas com e sem lapachol. Este fungo teve seu crescimento se perfazendo em volta do micélio ou falhas aleatórias são formadas, sendo possível observar em uma delas um afastamento completo do micélio e posterior retorno de crescimento.



Figura 7 – Formas de crescimento do fitopatógeno *Trichoderma harzianum*

Tomando o crescimento máximo atingido pelos micélios das três espécies em sete dias como sendo 100% e o crescimento atingido em presença de lapachol como uma proporção deste maior crescimento, obteve-se a Figura 8. Por meio desta figura foi possível realizar uma inspeção visual sobre o desenvolvimento dos fungos em ausência e em presença de lapachol, inclusive comparando a resposta obtida sob diferentes dosagens de lapachol e entre as três espécies estudadas.

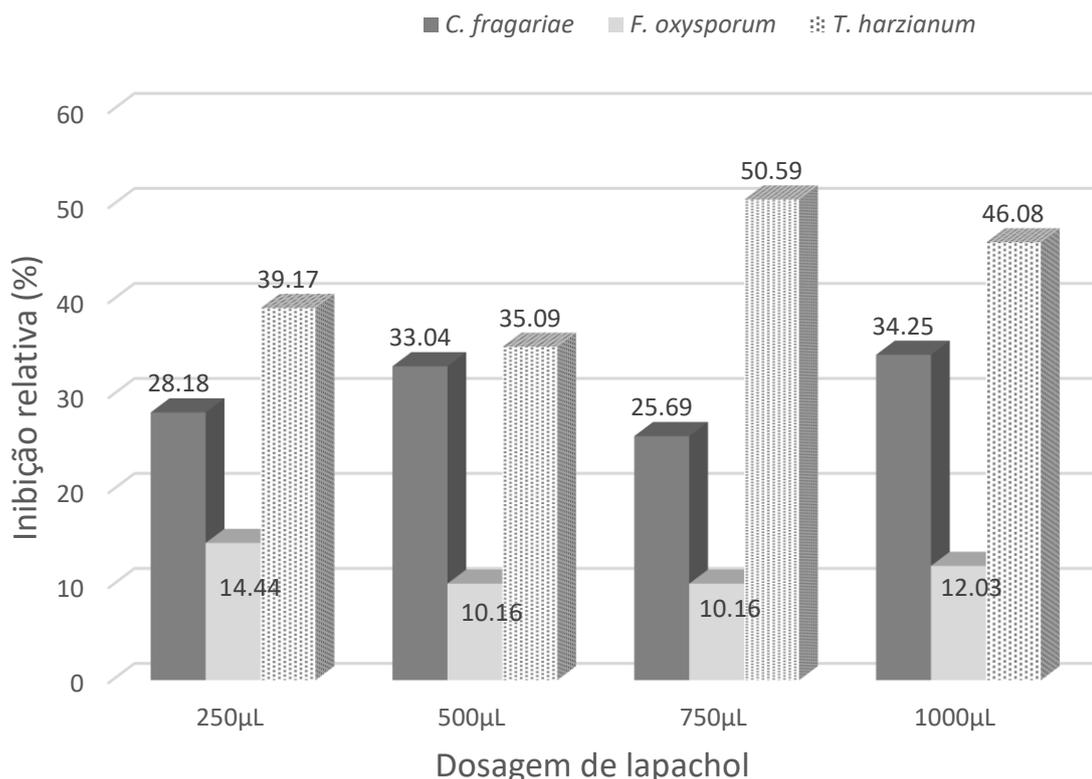


Figura 8 – Crescimento relativo de micélio dos fungos estudados em meio com e sem lapachol para os três fungos estudados.

Pela inspeção visual da Figura 8, observou-se que *C. fragariae* apresentou crescimento similar em todos os tratamentos contendo lapachol. Independente da dosagem, tal crescimento foi inferior ao crescimento apresentado sem lapachol. A maior inibição ocorreu na dosagem de 1000 µL, quando o micélio alcançou cerca de 34% de inibição e a menor inibição ocorreu na dosagem de 750 µL, com o micélio desenvolvendo aproximadamente 25% menos. Não foi possível, por inspeção visual, notificar um padrão de crescimento em função das dosagens a que *C. fragariae* foi exposto.

F. oxysporum foi o fungo menos afetado por lapachol dentre os três estudados. A resposta foi muito similar para as quatro dosagens. A menor inibição foi obtida tanto na

dosagem de 750 µL como na de 500 µL, onde a inibição foi de apenas cerca de 10% do crescimento apresentado na ausência de lapachol.

É importante destacar que *T. harzianum* foi o fungo que teve o crescimento mais inibido pela presença de concentração de lapachol. A menor inibição apresentada foi de 35% e ocorreu na dosagem de 500 µL. Por sua vez o pior desempenho de *T. harzianum*, ou seja, a maior inibição, ocorreu na dosagem de 750 µL.

Considerando as três espécies, as diferenças de inibição entre os tratamentos com lapachol foram sutis e sugerem que a diferença mais relevante para o crescimento de micélios das três deverá estar entre ter e não ter lapachol. Assim, para qualquer diluição de lapachol, todos os três fungos apresentaram desempenho menor do que a metade daquele apresentado no BDA puro, ou seja, tiveram o seu desenvolvimento micelial seguramente inibido. Apesar da diferença pronunciada, *a priori*, que se observa entre as três espécies, os efeitos das diferentes dosagens sobre uma mesma espécie foram sutis. Contudo, melhor detalhamento pode ser obtido a partir dos resultados das análises estatísticas que foram apresentados a seguir.

A leitura dos tamanhos de raio de crescimento de *C. fragariae* foi em média 30% menor quando os micélios se desenvolveram em meios com lapachol, independente da sua diluição ($F_{(4,10)}=23,628$; $p<0,001$; Figura 9A). Apesar de contarmos com somente três dias de leitura de crescimento dos micélios, é claro o fato de que, apesar da inibição apontada anteriormente, os micélios continuaram a se desenvolver ao longo do tempo de aferição ($F_{(2,20)}=343,508$; $p<0,001$; Figura 9B). E, por fim, houve interação entre a diluição de lapachol e o tempo de crescimento sobre o tamanho dos micélios ($F_{(8,20)}=2,650$; $p=0,036$; figura 9C). Neste caso, apesar de haver troca de posição de maiores crescimentos entre o terceiro, quinto e sétimo dia de avaliação para os tratamentos com lapachol, eles terminaram com crescimento idêntico e, sistematicamente, todos eles tiveram desempenho aquém do crescimento apresentado pelo micélio quando em meio com BDA puro.

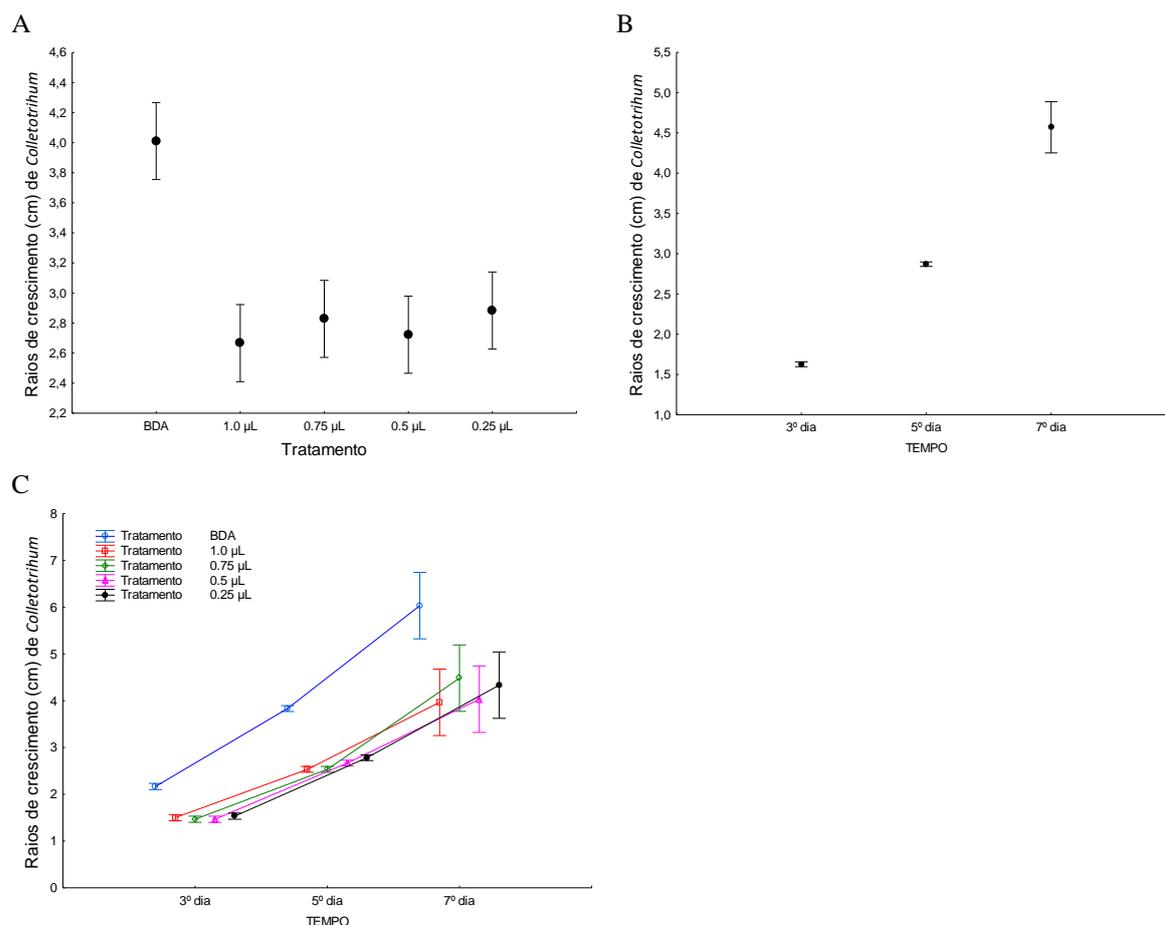


Figura 9 – Apresentação do crescimento de micélios de colônias de *C. fragariae*. Em 9A, no eixo X, BDA indica o meio de cultura sem a presença de lapachol e as medidas 1000 µL, 750 µL, 500 µL e 250 µL representam as dosagens de lapachol nos tratamentos experimentais. Em 9B, no eixo X, são apresentadas as leituras de crescimento no terceiro, quinto e sétimo dia de experimento. Finalmente, em 9C, é apresentado o crescimento de micélio para BDA e demais tratamentos em cada dia de leitura, ou seja, a figura com resultados da interação entre os dois fatores. Para as três figuras, a medida central ilustra a média e a medida de dispersão ilustra o intervalo de confiança de 95% dos tratamentos. A sobreposição de um intervalo de confiança de 95% de um tratamento sobre a média de outro tratamento, ilustra igualdade estatística entre eles.

Semelhante a *C. fragariae*, o crescimento de micélios de *F. oxysporum* sistematicamente foram menores na presença de lapachol ($F_{(4,10)}=25,480$; $p<0,001$; Figura 10A). Contudo, tal inibição não impossibilitou o seu crescimento com o tempo ($F_{(3,30)}=69,337$; $p<0,001$; Figura 10B). Apesar dos dois apontamentos anteriores, tal crescimento respondeu à interação entre tempo e os tratamentos aplicados ($F_{(12,30)}=13,030$; $p<0,001$) tornando indispensável a interpretação da interação para entendimento do fenômeno (Figura 10C). Tal interpretação ilustra que *F. oxysporum* tem melhor desempenho de crescimento no primeiro dia nos tratamentos com dosagem de 500 µL e 250 µL, mas, sem a manutenção deste padrão ao longo dos próximos três dias de leitura. Ao final do período de análise é possível notar que o crescimento de micélios de *F. oxysporum* é maior no meio com BDA puro (na figura,

circunferências azuis) desde o segundo dia de leitura e igualmente menor entre os tratamentos contendo lapachol.

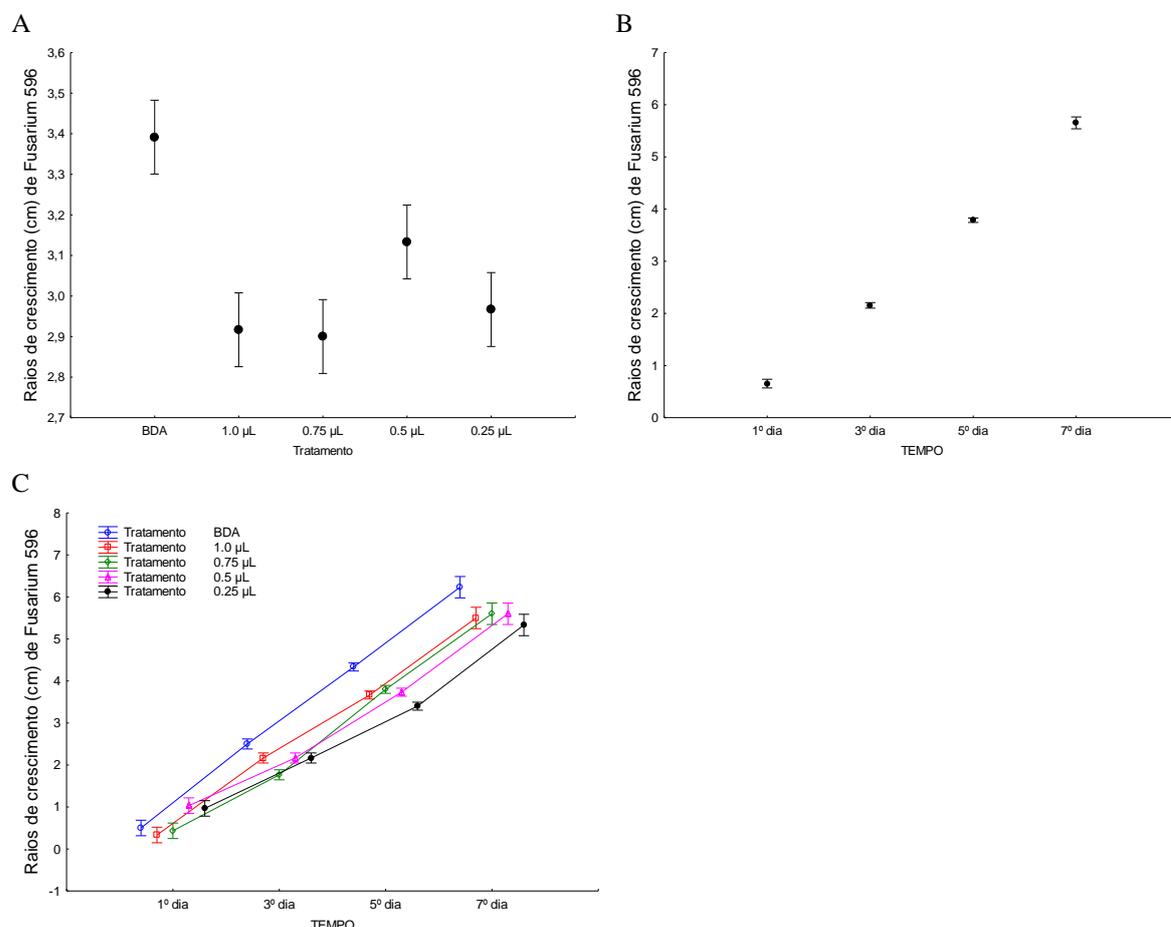


Figura 10 - Apresentação do crescimento de micélios de colônias de *F. oxysporum*. Em 10A, no eixo X, BDA indica o meio de cultura sem a presença de lapachol e as medidas 1000 µL, 750 µL, 500 µL e 250 µL representam as dosagens de lapachol nos tratamentos experimentais. Em 10B, no eixo X, são apresentadas as leituras de crescimento no primeiro, terceiro, quinto e sétimo dia de experimento. Finalmente, em 10C, é apresentada a interação entre o crescimento de micélio para BDA e demais tratamentos com o tempo, em quatro dias de leitura. Para as três figuras, a medida central ilustra a média e a medida de dispersão ilustra o intervalo de confiança de 95% dos tratamentos. A sobreposição de um intervalo de confiança de 95% de um tratamento sobre a média de outro tratamento, ilustra igualdade estatística entre eles.

Em relação à *T. harzianum*, todas as placas com BDA puro foram totalmente tomadas pelos micélios no quinto dia, indicando excelente crescimento no meio sem o lapachol. Assim, a ausência de variação nas medidas obtidas no quinto e no sétimo dia de amostragem, nos impediu de realizar as comparações estatísticas para estes dois dias. Assim, para *T. harzianum* foram utilizados os comprimentos dos micélios obtidos somente no primeiro e no terceiro dia de experimento. Assim como ocorreu para as duas espécies anteriores, os tamanhos de raio de crescimento de *T. harzianum* foi maiores na ausência de lapachol e iguais na presença de qualquer diluição ($F_{(4,10)}=7,180$; $p=0,004$; Figura 11A). Apesar de aferidos os micélios em somente dois dias, também é evidente que os micélios aumentam com o tempo ($F_{(1,10)}=368,130$;

$p < 0,001$; Figura 11B), inclusive ilustrando-se as grandes dimensões alcançadas na segunda leitura durante o terceiro dia. E, novamente, a interação entre tempo e tratamentos é relevante ($F_{(4,10)}=12,719$; $p < 0,001$; Figura 11C), devido ao fato de que o crescimento micelial foi semelhante entre todos os tratamentos no primeiro dia, mas, superior no BDA puro, quando aferido no terceiro dia.

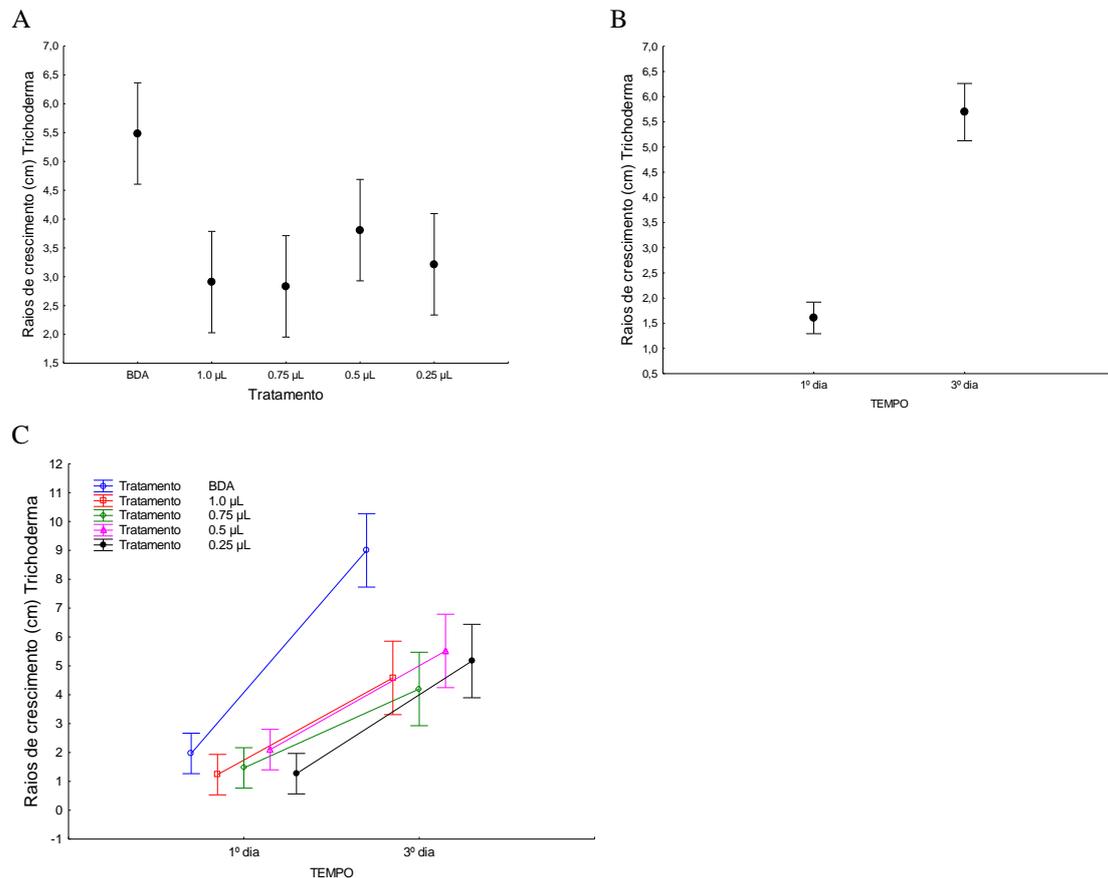


Figura 11 – Apresentação do crescimento de micélios de colônias de *T. harzianum*. Em 11A, no eixo X, BDA indica o meio de cultura sem a presença de lapachol e as medidas 1000 µL, 750 µL, 500 µL e 250 µL representam as dosagens de lapachol nos tratamentos experimentais. Em 11B, no eixo X, são apresentadas as leituras de crescimento no primeiro e terceiro dia de experimento. Em 11C é apresentada a interação entre o crescimento de micélio para BDA e demais tratamentos com o tempo, em dois dias de leitura. Para as três figuras, a medida central ilustra a média e a medida de dispersão ilustra o intervalo de confiança de 95% dos tratamentos. A sobreposição de um intervalo de confiança de 95% de um tratamento sobre a média de outro tratamento, ilustra igualdade estatística entre eles.

4. DISCUSSÃO

Extratos medicinais de plantas têm atraído a atenção da indústria como agentes potenciais para o controle de doenças em cultivos de alimentos, tanto no campo como no armazenamento. Suas propriedades antimicrobianas se devem ao espectro de seus metabólitos secundários como por exemplo, fenóis, polifenóis, flavonóides, glicosídeos, taninos e alcalóides que inibem o desenvolvimento de patógenos (SEEPE, 2021).

A forma como produtos químicos antifúngicos inibem o crescimento de patógenos é interferindo na biossíntese dos principais componentes da parede celular e da membrana celular ou através da formação de canais iônicos na membrana celular (KAWAKAMI, 2015). No que diz respeito aos produtos de origem natural os seus principais mecanismos de ação podem incluir perturbação da integridade da parede celular do fungo através da inibição da síntese de quitina e β -glucanos, ruptura da membrana celular, tal como ligação ou inibição da biossíntese de ergosterol, disfunção mitocondrial, inibição da divisão celular, inibição de ácido ribonucleico, ácido desoxirribonucleico ou síntese proteica, e da bomba de efluxo (LAGROUH, 2017). A ruptura da membrana fúngica pode levar à permeabilidade da membrana e, eventualmente, impedir funções bioquímicas normais (RAVEAU, 2020).

Um ponto de importância é o fator de toxicidade humana desses compostos naturais, geralmente os produtos provenientes de espécies de plantas medicinais são relativamente seguros, apresentam baixa toxicidade humana, utilizados desde nossos ancestrais. No entanto, há uma importância de estudos perante as quantidades a serem utilizadas minimizando os problemas ocasionados pelo uso indiscriminado desses compostos (SENIGALIA, 2020). Para o meio ambiente são facilmente biodegradáveis porque os produtos naturais, principalmente de plantas, são inerentemente instáveis com temperaturas elevadas e, conseqüentemente, não persistem no meio ambiente por muito tempo em comparação com os fungicidas sintéticos convencionais (MARTINEZ, 2012).

Em relação ao lapachol seus estudos de toxicidade estão mais ligados aos meios de utilização através de medicamentos, apresentando alguns indicadores de náuseas e vômito quando ingeridos 1,5g por dia (ARAÚJO, 2002). De acordo com estudo apresentado por Servan (2022), foi avaliado DL50 (dose letal capaz de inibir ou causar morte em 50%) de 65,84 mg/mL em testes com *Artemia salina* (LINNAEUS, 1758) (PEREIRA, 2015). Esta dosagem está muito acima das que foram utilizadas nos testes deste trabalho, e lembrando que essa quantidade se trata de uma ingestão ou inalação direta.

O lapachol foi o produto natural utilizado nesse trabalho como inibidor do crescimento dos fitopatógenos *C. fragariae* e *F. oxysporum*. A inibição apresentada corroborou com a hipótese deste trabalho. Tal influência, pode ser benéfica para o cultivo de alimentos quando um destes dois fitopatogênicos consistirem em ameaça ao cultivo, necessitando apenas de estudos que retratem essa relação de forma *in vivo* avaliando fatores como toxicidade gerada. Além disso, pôde-se constatar também que a presença do lapachol parece ser mais importante do que a sua dosagem, já que as diferenças são muito sutis sobre a inibição exercida em diferentes concentrações. Em outras palavras, o crescimento dos dois fungos fitopagênicos aqui estudados foi inibido, de forma semelhante, nas diferentes dosagens de lapachol utilizadas.

Em relação ao uso do lapachol para o controle de cada um dos dois fitopatógenos estudados, as dosagens ideais são a menor testada. No caso do patossistema sofrer danos com a presença de *C. fragariae* a dosagem ideal para seu controle é a de 250 µL. Tal determinação vem do fato de não haver diferenças de desempenho do fungo para as diferentes dosagens de lapachol (Figura 9). Assim, a expectativa de eficácia de ação do lapachol está entre 28 e 34% de inibição (Figura 10), já que estas foram as inibições encontradas no experimento *in vitro*.

Considerando este nível de inibição, se faz necessária continuação do estudo para uma realização *in vivo* viabilizando melhor entendimento de como o lapachol irá reagir contra os fungos em meio aos cultivares e qual seria seu grau de inibição de forma direta. Após estes estudos uma resposta de redução de danos às plantas cultivadas pode surgir sendo favorável e produzir menores efeitos negativos sinérgicos entre elementos limitadores às plantas como, por exemplo, aqueles advindos de estresses ambientais (ZHANG et al., 2022). Além disso, produtos naturais podem reduzir o custo envolvido no tratamento da peste agrícola, reduzir a contaminação da lavoura com agrotóxicos e possivelmente até preservar mais a biodiversidade no agroecossistema (LIESS et al., 2016). Em outras palavras, podem intensificar o uso de práticas sustentáveis, desejável na economia atual (CHARBET & SARTOU, 2020).

Apesar da inibição sobre *C. fragariae*, a eficácia desse controle depende de fatores que influenciam o fitopatógeno, a planta cultivada e o solo. Então, embora uma redução de 30% na população de *C. fragariae* possa ser benéfica, aumentando a produção de culturas e melhorando a sua qualidade agrícola, é importante considerar aspectos ecossistêmicos antes de tal decisão. Assim, uma avaliação *in vivo* pode ser a continuidade natural deste estudo com *C. fragariae*.

A menor dosagem (250 µL) também é a indicada para tentativa de controle de *F. oxysporum*, quando tal fitopatógeno representar ameaça a sistemas agrícolas de cultivo de alimentos, de acordo com os testes aqui apresentados. Isso se deve, novamente, à não existência

de diferenças estatísticas entre as dosagens estudadas (Figura 11). Porém, o poder de inibição deste fitopatógeno por lapachol ficou entre 10 e 14%, chegando a ser menos do que um terço do encontrado para *C. fragariae*. Tal intervalo de inibição vem da observação absoluta das inibições (Figura 9) e como não houve diferenças significativas entre elas, essa expectativa de inibição está entre a menor e a maior inibição possível registradas no experimento.

Apesar de menos inibitória, a interação entre o fungo e o lapachol pode ter alguma relação com as possíveis biotransformações que podem ocorrer quando o lapachol entra em contato com fungos filamentosos, o caso do *F. oxysporum*. Um recente estudo feito por Coitinho (2018) apresentou resultados de biotransformações entre o lapachol e alguns fungos filamentosos, obtendo como produto de biotransformação, o norlapachol que surge através da reação de Oxidação de Hooker (EYONG et al., 2013). Essa transformação é decorrente das reações mediadas pelas enzimas do microorganismo (COITINHO, 2018). Se for o caso de termos obtido uma biotransformação realizada pelo fungo isso projetou certa força de crescimento, mas essa conversão de compostos finalizou e ainda assim o lapachol em baixa quantidade obteve alguma ação inibitória.

Com desempenho de inibição por lapachol inferior ao obtido para *C. fragariae*, os benefícios para a lavoura podem ser mais limitados no uso de lapachol para controlar *F. oxysporum*. Mas, ainda assim, eles são possíveis. Considerando circunstâncias de danos leves à lavoura ou de início de propagação, o seu uso ainda pode ser relevante. O uso de lapachol pode significar, por exemplo, um retardo ao crescimento micelial do fitopatógeno. Há ainda a possibilidade de que a modesta ação do lapachol em interação com outras formas de controle, possa trazer benefícios satisfatórios, como quando é empregado o manejo integrado de doenças em cultivos agrícolas. Neste sentido, na Índia, *F. oxysporum* foi controlado em cultivo de pimentão por agentes biológicos, produtos botânicos e fungicidas tanto *in vitro* e *in vivo* (ABHINAV et al., 2021). Neste estudo de Abhinav et al., *T. harzianum* foi agente biológico utilizado, assim como o extrato de folha de nim e de folha de pinhão-manso, todos prevenindo a fusariose, caracterizando uma técnica de manejo integrado desta doença. O uso de compostos vegetais em conjunto ou isolado de *T. harzianum*, têm se comprovado eficaz em outras culturas, por exemplo, em grão-de-bico (DUBEY et al., 2007).

O uso de lapachol na presença de *T. harzianum* também corroborou à hipótese deste estudo, inibindo o organismo. Assim como para os fitopatogênicos, a presença do lapachol é mais relevante do que a concentração utilizada. Tal resultado é de grande relevância, já que este é um organismo benéfico nas lavouras. Bhandari (2021) apresenta diversas justificativas sobre

como as espécies de *Trichoderma* são importantes e utilizadas como controles de fitopatógenos, trazendo um meio de agricultura mais sustentável. Algumas características do *Trichoderma* são seu microparasitismo, competição e antibiose do qual utiliza para inibição do crescimento de outros micróbios patogênicos através da biossíntese de metabolitos direcionados, funcionando como reguladores desse crescimento, de enzimas e de antibióticos (SOOD, et al., 2020). Um dos fatores apresentados por Benitez et al. (2004), é de que o *Trichoderma* utiliza da sua capacidade de produção de compostos quelantes de ferro, que absorvem o ferro presente no solo, causando deficiência de ferro e conseqüentemente acidificação do solo, fazendo com que o ambiente se torne o duplamente desfavorável para alguns fitopatógenos. Assim, o uso de lapachol deve reduzir sua funcionalidade positiva dentro do sistema de produção de alimentos, sendo, através de nossos resultados, não indicado.

Em relação ao crescimento irregular de micélios de *T. harzianum*, tal fato pode ter ocorrido devido a *T. harzianum* ser um organismo que possui esporos extremamente soltos. Assim, pode ter depositado seus esporos por diferentes partes da placa ocasionando seu crescimento desordenado. No entanto os resultados obtidos neste estudo não são suficientes para afirmar se foi apenas esse fator esporulante do fungo, tampouco o quanto esse crescimento desordenado se fez por interferência do lapachol. Contudo em meio BDA puro, *T. harzianum* teve seu crescimento completo em apenas 3 dias, apresentando pequena falha de crescimento.

Considerando um agroecossistema contendo as três espécies, temos uma circunstância mais complexa, já que as três foram inibidas pela presença de lapachol e quando em sua presença, houve pequenas diferenças de inibição para diferentes dosagens de lapachol. Em outras palavras, utilizar o lapachol na presença de *T. harzianum* pode não constituir uma boa estratégia já que *T. harzianum* tem poder de inibir fitopatógenos como *C. fragariae* e *F. oxysporum*. Se a inibição de *T. harzianum* fosse inexistente ou baixa, o uso do lapachol poderia ser indicado como uma técnica de manejo integrado para os organismos fitopatogênicos estudados. Mas, não é o caso. Neste caso, imaginando um agroecossistema que, por qualquer motivo apresente as três espécies, seria importante aferir se os benefícios da presença de lapachol, dados os seus efeitos negativos sobre as espécies fitopagênicas, são maiores ou não do que os efeitos de *T. harzianum* sobre tais fitopatogênicos, sendo esta uma nova fase de estudo. Neste estudo, tais probabilidades não foram avaliadas, o que pode, novamente, estimular um novo estudo em forma de meta-análises ou experimental, envolvendo a questão.

5. CONCLUSÃO

O lapachol foi extraído com grau de pureza entre 95%, alcançando inibição de 34% sobre o fitopatógeno *C. fragariae*, sugerindo a sua possibilidade de uso como mecanismo de controle. O estudo aprofundado sobre as dosagens de lapachol utilizadas se fazem necessárias, buscando uma escala de dosagens mais ampla tanto para menores quanto maiores, para garantir os efeitos aqui abordados.

A inibição de lapachol sobre *F. oxysporum* alcançou 14%, sugerindo que a sua eficácia quando em sistema *in vitro*. A indesejada inibição sobre *T. harzianum* alcançou 50%, sugerindo que o uso concomitante de lapachol e deste organismo, precisa ser melhor investigado para se tomar decisões de controle.

6. REFERENCIAS

- Abdel-Azeem, A. M.; Abdel-Azeem, M. A.; Darwish, A. G.; Nafady, N. A.; & Ibrahim, N. A. Fusarium: biodiversity, ecological significances, and industrial applications. Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi: Volume 1: Diversity and Enzymes Perspectives, 201-261, 2019.
- Abhinav, P. S. S. & Abhilasha A. L.. Efficacy of Bio-agents and Botanicals In-vitro and Integrated Disease Management of Wilt Disease of Chilli caused by Fusarium oxysporum f.sp. capsici. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 10(07): 503-513, 2021.
- Angelotti, F.; Ghini, R. & Bettiol, W.. Como o aumento da temperatura interfere nas doenças de plantas? In: Bettiol, W. et al. Aquecimento global e problemas fitossanitários. Brasília, DF: Embrapa Meio Ambiente. p. 116-143, 2017.
- Antunes, R. M. P.; Lima, E. O.; Pereira, M. S. V.; Camara, C. A.; Arruda, T. A.; Catão, R. M. R.; Barbosa, T. P.; Nunes, X. P.; Dias, C. S. & Silva, T. M. S. - Atividade antimicrobiana “*in vitro*” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, Out./Dez. 2006.
- Araújo, E. L.; Alencar, J. R. B. & Neto, P. J. R.; Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. Revista Brasileira de Farmacognosia, 12 (suppl 1), 2002.
- Araujo, G. R.. Lapachol, β -Lapachona e Hidroxi-Hidrolapachol: Extração, Síntese, Caracterização e Aplicação como Inibidores do Crescimento de Fungos Patogênicos da

- Soja. Monografia (em Licenciatura em Química) -Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2019.1
- Benitez, T., Rincon, A. M., Limon, C. M., & Codon, A. C.. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. *International Microbiology*, 7(4), 249-260, 2004.
- Bhandari, S., Pandey, K. R., Joshi, Y. R., & Lamichhane, S. K., An overview of multifaceted role of *Trichoderma* spp. for sustainable agriculture. *Archives of Agriculture and Environmental Science*, 6(1), 72-79, 2021. <<https://dx.doi.org/10.26832/24566632.2021.0601010>>.
- Campos, J. O. & Chaves, H. M. L., Tendências e Variabilidades nas Séries Históricas de Precipitação Mensal e Anual no Bioma Cerrado no Período 1977-2010. *Revista Brasileira de Meteorologia*, v. 35, n. 1, 157-169, 2020.
- Carvalho, W. H. A. N. P., Silva, H. F., Santos, A. M. G., & Costa, E. M., Prospecção de *Aureobasidium pullulans*, isolado do bioma caatinga, no biocontrole de *Colletotrichum truncatum* em sementes de soja. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, v. 24, n. 4, p. 365-369, 2020.
- Castro, A. R.; Herrera, S. T.; Calleros, A. D.; Garcia, A. R. & Flores, M. S., Extractos vegetales para el control de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*, una alternativa sostenible para la agricultura. *Abanico Agroforestal*. Enero-Diciembre, 2:1-13, 2020. <<http://dx.doi.org/10.37114/abaagrof/2020.7>>.
- Chabert, A.; Sarthou, J.P.. Conservation agriculture as a promising trade-off between conventional and organic agriculture in bundling ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 292, Article 106815, 2020.
- Chang, Y., Harmon, P. F., Treadwell, D. D., Carrillo, D., Sarkhosh, A., & Brecht, J. K. Biocontrol potential of essential oils in organic horticulture systems: From farm to fork. *Frontiers in Nutrition*, 8, 805138., 2022.
- Coitinho, L. B.; Biotransformação do lapachol por fungos filamentosos – análise proteômica para identificação da rota de biotransformação, 119f. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.
- Damm, U.; Sato, T.; Alizadeh, A.; Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. Magnum* and *C. Orchidearum* species complexes. *Studies in Mycology*, 92, 1–46, 2019.

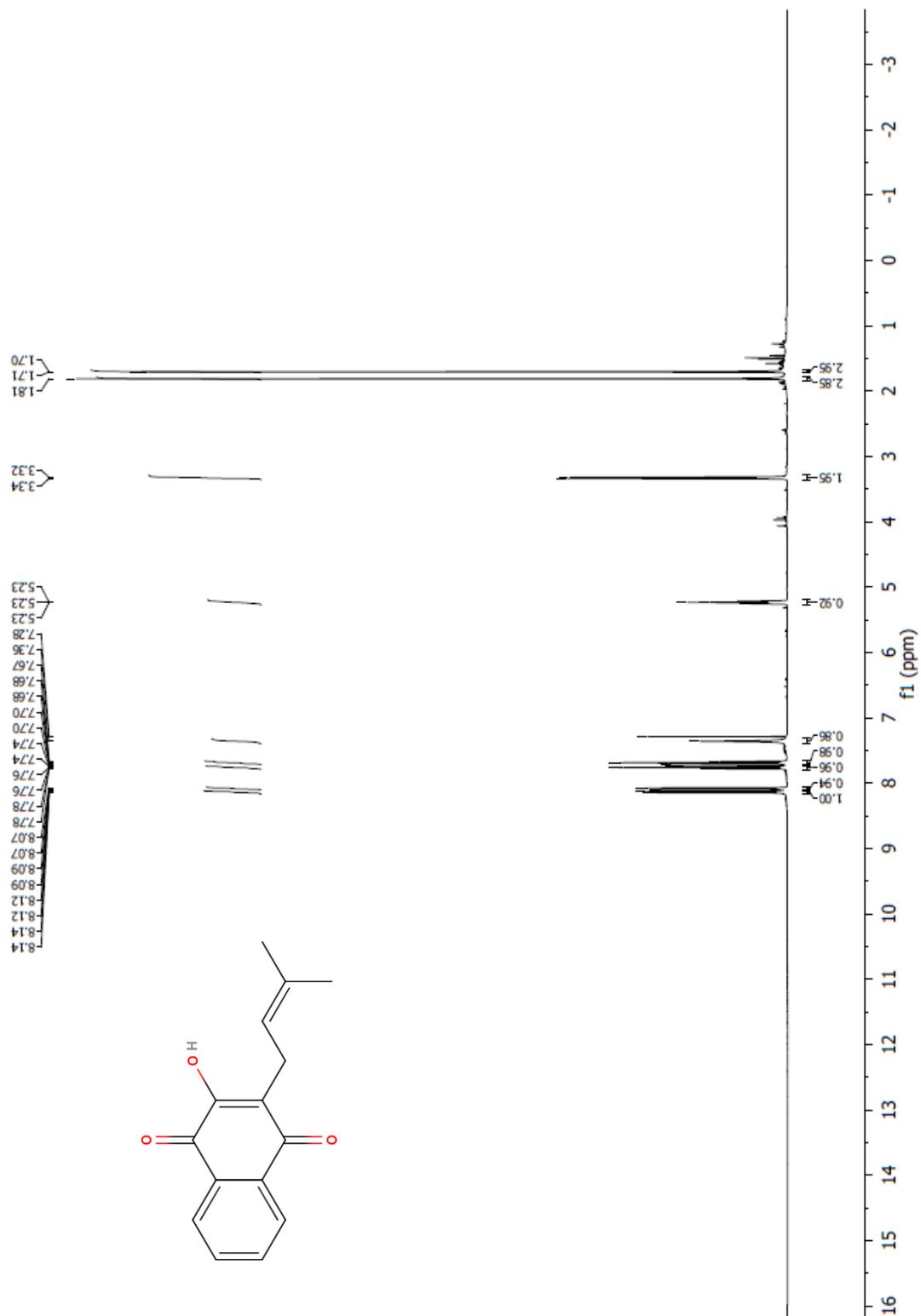
- Dubey, S. C., Suresha, M. & Singha, B.. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biol. Control*, 40, 118–127, 2007.
- Eyong, K. O.; Puppala, M.; Kumar, P.S.; Lamshöft, M.; Folefoc, G. N.; Sptiller, M. & Baskaran, S., A mechanism study on the Hooker oxidation: synthesis of novel indane carboxylic acid derivates from lapachol. *Organic & Biomolecular Chemistry*, v. 11, n. 3, p. 459 – 468, 2013.
- Ferreira, V. F.. Aprendendo sobre os Conceitos de Ácidos e Bases. Experimentação no Ensino de Química. *Química Nova na Escola - Conceitos de Ácido e Base* N° 4, Novembro, 1996.
- Florien. Ipê Roxo. Estrada Vicente Bellini, 175, Piracicaba/SP, 2016.
- Gonçalves, Ygor L. M.; Siqueira, E. S.; Ferreira, C. A.; Teixeira, M. S.; Correa, P. V. & Urbinati, C. V., Aplicação de algoritmos de Random Forest no suporte à identificação das espécies *Handroanthus Serratifolius* (Vahl) S. O. Grose e *Handroanthus Impetiginosus* (Mart. Ex DC.) Mattos (bignoniaceae). *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.8, n.5, p.39721-39735, may, 2022.
- Hussain, H., Krohn, K., Ahmad, V. U., Miana, G. A., & Green, I. R. Lapachol: an overview. *Arkivoc*, 2(1), 145-171, 2007.
- Hussain, H.; Krohn, K.; Ahmad, V. U.; Miana, G. A.; Greend, I. R.. Lapachol: An overview. *Arkivoc*, v. 2007, N° 2, p. 145, 2012.
- Kawakami, K.; Inuzuka, H.; Hori, N.; Takahashi, N.; Ishida, K.; Mochizuki, K.; Ohkusu, K.; Muraosa, Y.; Watanabe, A. & Kamei, K. Inhibitory effects of antimicrobial agents against *Fusarium* species. *Med. Mycol*, 53, 603–611, 2015.
- Krause, N. G., Serrano, C. C. F., & Schultz, L. K. W., Phytochemical and antimicrobial evaluation of substances in the bignoniaceae family. *Journal of Interdisciplinary Debates*, 3(02), 218–235, 2022.
- Lagrouh, F.; Dakka, N.; Bakri, Y. The antifungal activity of Moroccan plants and the mechanism of action of secondary metabolites from plants. *J. Mycol. Med.*, 27, 303–311, 2017.
- Liess, M., Foit, K., Knillmann, S. et al.. Predicting the synergy of multiple stress effects. *Sci Rep* 6, 32965, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep32965>
- Marin-Felix, Y., Groenewald, J.Z., Cai, L., Chen, Q., Marincowitz, S. & Barnes, I. et al., Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. *Studies in Mycology*, 86, 99–216, 2017.

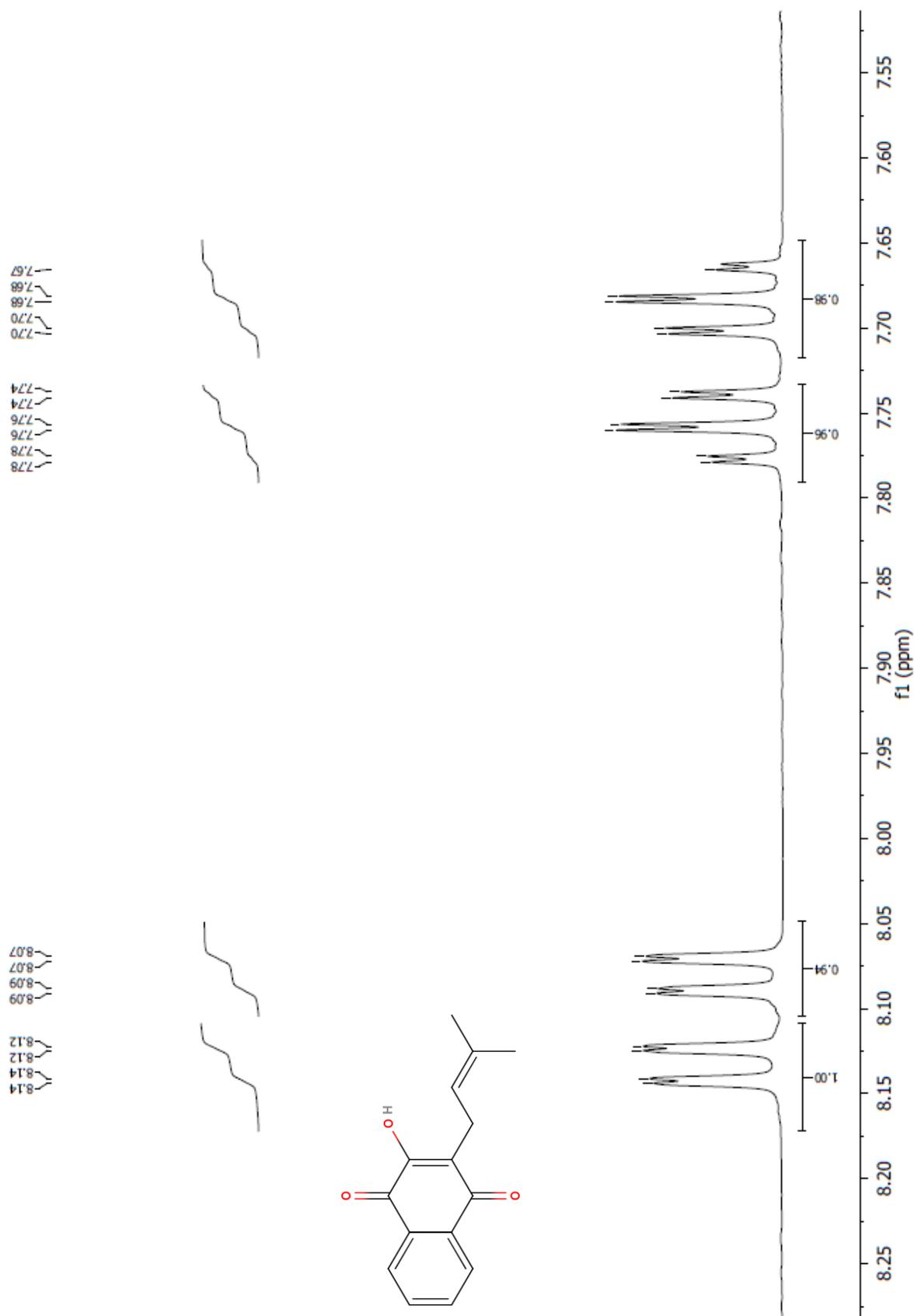
- Marín-Menguiano, M., Moreno-Sánchez, I., Barrales, R. R., Fernández-Álvarez, A., & Ibeas, J. I., N-glycosylation of the protein disulfide isomerase Pdi1 ensures full *Ustilago maydis* virulence. *PLoS Pathogens*, 15(11), e1007687, 2019. <<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007687>>.
- Martínez, J.A. Natural fungicides obtained from plants, fungicides for plant and animal diseases. In *Fungicides for Plant and Animal Diseases*; Dhanasekaran, D., Ed.; InTech Open: Shanghai, China, 2012.
- Maswada, H.F.; Abdalla, S.A. In vitro Antifungal Activity of Three Geophytic Plant Extracts against Three Post-harvest Pathogenic Fungi. *Pak. J. Biol. Sci.*, 16, 1698–1705, 2013.
- Moro, D. - *Trichoderma*: versatilidade, função e potencialidades. Equipe Mais Soja, 2018. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/trichoderma-versatilidade-funcao-e-potencialidades/>>.
- Nikitin, D. A.; Ivanova, E. A.; Semenov, M. V.; Zhelezova, A. D.; Ksenofontova, N. A.; Tkhakakhova, A. K., & Kholodov, V. A. Diversity, Ecological Characteristics and Identification of Some Problematic Phytopathogenic *Fusarium* in Soil: A Review. *Diversity*, v. 15, n. 1, p. 49, 2023.
- Pereira, E. M.; Filho, M. T. L.; Mendes, F. A.; Martins, A. N. A. & Rocha, A. P. T.. Potencial toxicológico frente *Artemia Salina* em plantas condimentares comercializadas no município de Campina Grande-PB. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 10, n.1, p. 52 - 56, jan-mar, 2015.
- Raveau, R.; Fontaine, J. & Sahraoui, A.L. Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. *Foods*, 9, 365, 2020.
- Santos, J.R. et al. Lapachol and its derivatives as potential antifungal agents: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 178, p. 437-458, 2019.
- Sartorelli P., Marquioreto A. D., Amaral-Baroli A., Lima M., Moreno P. R. H.. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of eucalyptus. *Phytotherapy Res.* 21:231–3, 2007.
- Seepe, H.A.; Nxumalo, W.; Amoo, S. O. Natural Products from Medicinal Plants against Phytopathogenic *Fusarium* Species: Current Research Endeavours, Challenges and Prospects. *Molecules*, 26:6539, 2021.
- Senigalia, R. L. C.; Ferreira, A. L. de S.; Kratz, D.; Barbosa C. M. de F.; Santos A. S. R. M.. & Castro, D. A.. Toxicidade de extratos vegetais de plantas do cerrado de uso medicinal /

- Toxicity of vegetable extracts from plants in the cerrado for medicine use. *Brazilian Journal of Development*, 6(8), 55308–55317, 2020.
- Servan, R. F.. Ensaio com *artemia salina* para análise de toxicidade de extrativos de madeira. 2022. 12 f., il. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) — Universidade de Brasília, Brasília, 2022.
- Shah, M., & Aafiya, H.. Introductory Chapter: Identification and Isolation of *Trichoderma* spp. - Their Significance in Agriculture, Human Health, Industrial and Environmental Application. In *Trichoderma - The Most Widely Used Fungicide*, 2019.
- Sharma, L. & Marques, G.. *Fusarium*, an entomopathogen—A myth or reality?. *Pathogens*, v. 7, n. 4, p. 93, 2018.
- Silva, M. S. L., Principais doenças da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), 37p. Monografia (graduação em Agronomia) - Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2019.
- Silva, T. A. da. Estudos microbiológicos e de genética toxicológica de *Handroanthus impetiginosus* e sua potencial aplicabilidade a medicina veterinária. 60 f. Tese (Programa de Doutorado em Reprodução, Sanidade e Bem-estar Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, 2019.
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishna, M., & Landi, M.; *Trichoderma*: The "secret" of a multitalented biocontrol agent. *Plants*, 9 (762), 1-25, 2020.
- Souza, M. A. A. D., Silva, A. R. D., Ferreira, M. A., Lemos, M. J. D., Ramos, R. G., Ferreira, A. B. B., & Souza, S. R. D. Atividade biológica do lapachol e de alguns derivados sobre o desenvolvimento fúngico e em germinação de sementes. *Química Nova*, 31, 1670-1672, 2008.
- Souza, M. A., Johann, S., Lima, L. A. R. D. S., Campos, F. F., Mendes, I. C., Beraldo, H. & Zani, C. L.. The antimicrobial activity of lapachol and its thiosemicarbazone and semicarbazone derivatives. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108, 342-351, 2013.
- Torres-Rodriguez, J. A., Reyes-Perez, J. J., Castellanos, T., Angulo, C., Quinones-Aguilar, E. E., & Hernandez-Montiel, L. G. (2021). A biopolymer with antimicrobial properties and plant resistance inducer against phytopathogens: Chitosan. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, v. 1, pág. 12231-12231, 2021.
- Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z. et al.. Abiotic stress responses in plants. *Nat Rev Genet* 23, 104–119, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00413-0>

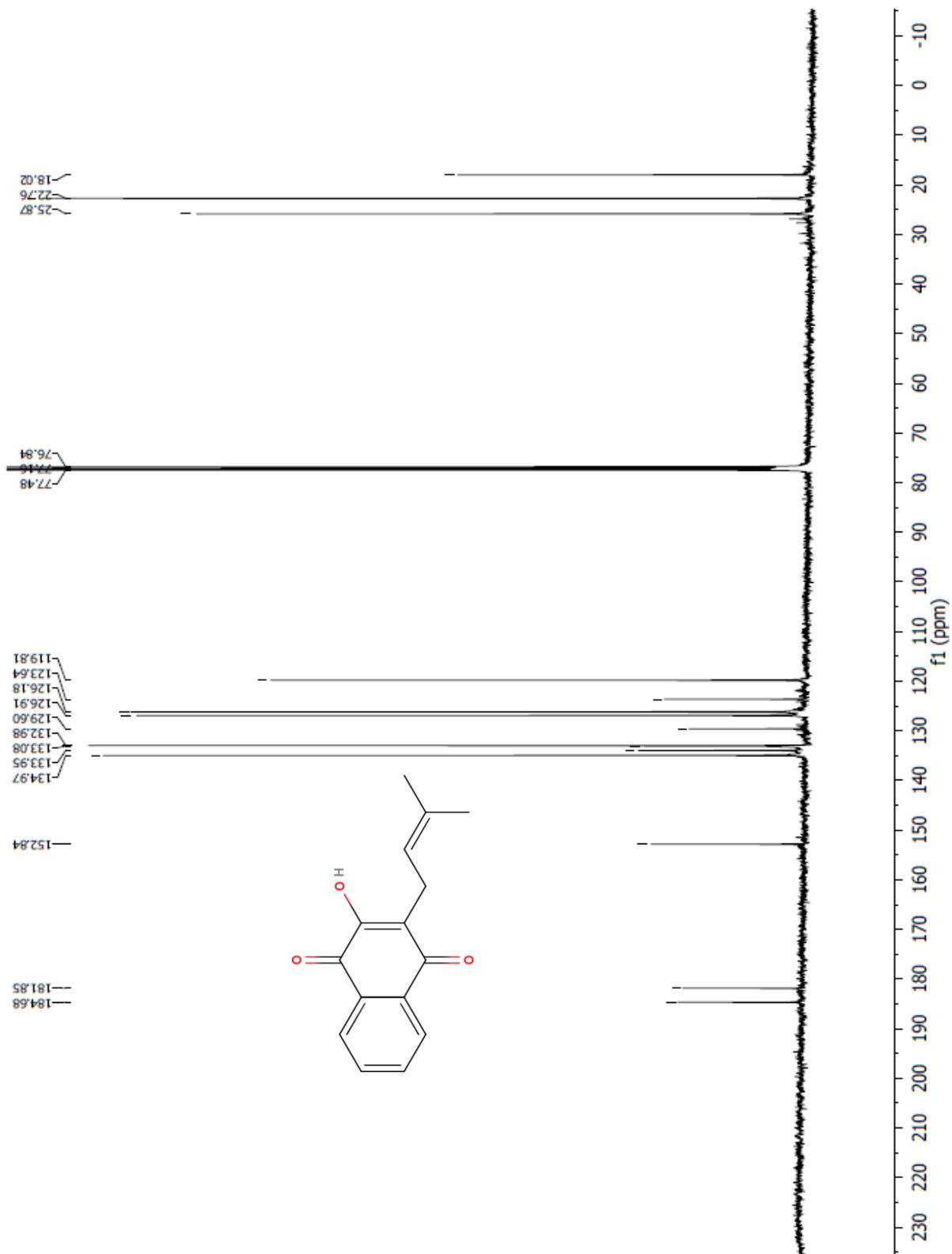
7. ANEXOS

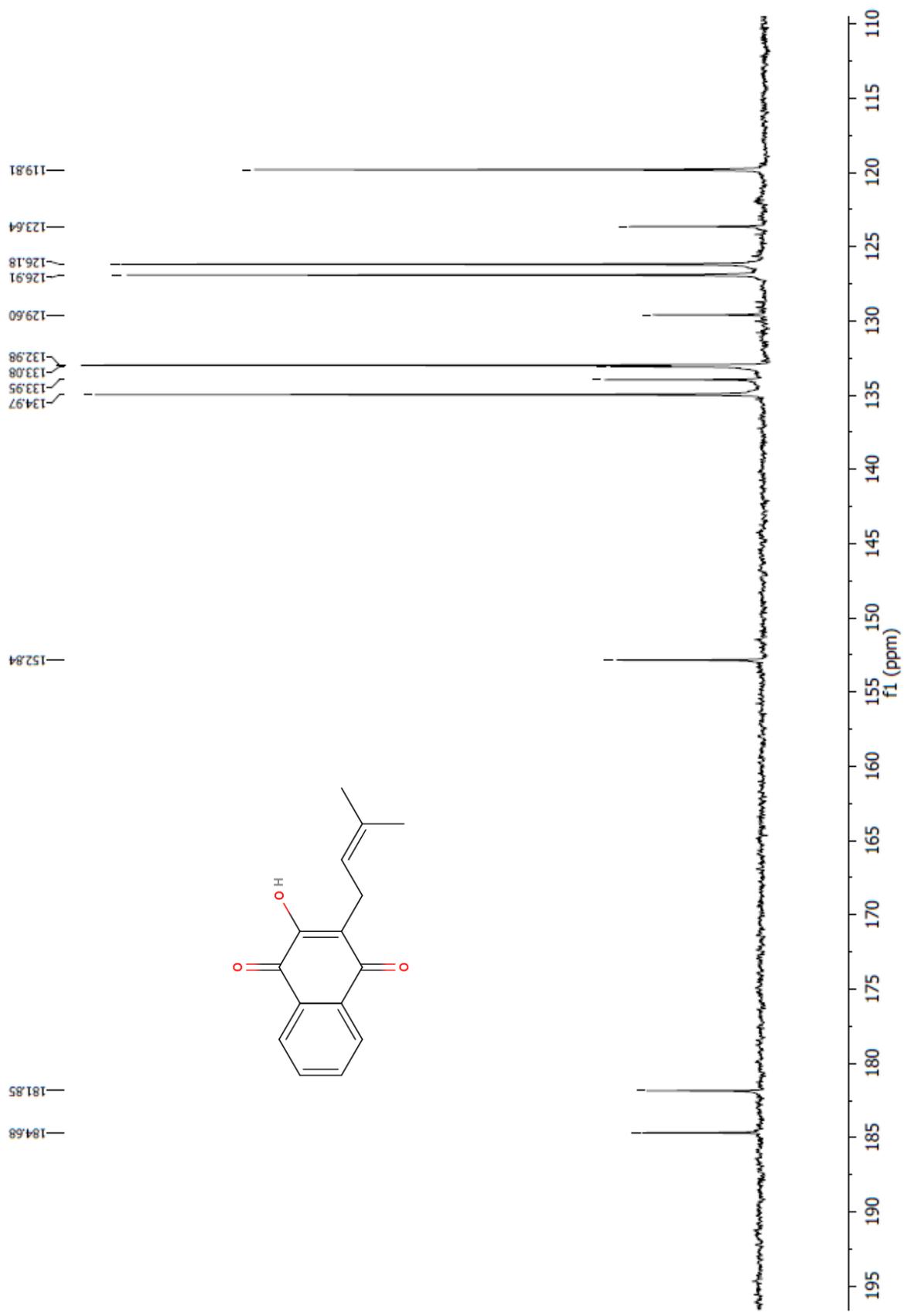
7.1 - RMN ^1H do Lapachol realizado em CD_2Cl_2 (400MHz).





7.2 – RMN ¹³C do Lapachol realizado em CD₂Cl₂ (400MHz).





INTERAÇÃO COM MICROORGANISMOS E DEGRADAÇÃO DO LAPACHOL EM LATOSSOLOS DE TEXTURA MÉDIA, ARGILOSA E ARENOSA

RESUMO

O solo é um ambiente rico em quantidade e diversidade de microrganismos, responsáveis por diversos processos essenciais para a manutenção de sua qualidade. Buscando pela troca de produtos químicos de controle de pragas por produtos naturais que tragam menores faixas de interferências na microbiota do solo, surge o lapachol. Esta é uma molécula natural, derivada da naftoquinona, sendo um dos mais versáteis compostos biologicamente ativos. O objetivo deste trabalho foi analisar a interação do lapachol com a atividade microbiana de solos de texturas média, argilosa e arenosa, com o intuito de avaliar a sua degradação, portanto a sua durabilidade e usabilidade do seu potencial antifúngico. A respirometria foi utilizada para quantificar a liberação de dióxido de carbono (CO₂) como indicador da atividade microbiana. Os resultados mostraram que a presença de lapachol aumentou o desprendimento de CO₂ nos três tipos de solo, indicando uma maior atividade microbiana na presença do composto. A degradação foi mais lenta do que o esperado para os três tipos de solo, indicando uma boa persistência no solo. Notavelmente, o solo argiloso apresentou o maior aumento na atividade microbiana na presença de lapachol e possivelmente, o menor tempo de ação do composto. Já no solo arenoso, a interação foi menor, podendo significar o maior tempo de ação do composto. Este estudo sugere que o lapachol pode ser eficaz no controle de fitopatógenos, especialmente em solos de textura arenosa. No entanto, são necessárias mais pesquisas para compreender a dinâmica da degradação do lapachol em diferentes condições de solo e seu potencial impacto no manejo agrícola sustentável.

Palavras-chave: Latossolos; Cerrado; Microbiota; Respirometria.

ABSTRACT

Soil is an environment rich in the quantity and diversity of microorganisms that are responsible for various processes essential for maintaining its quality. In seeking the exchange of chemical pest control products for natural products that bring lower levels of interference in soil microbiota, lapachol has emerged. It is a natural molecule derived from naphthoquinone, and is one of the most versatile biologically active compounds. The aim of this study was to analyze the interaction of lapachol with the microbial activity of soils with medium, clayey, and sandy textures, in order to evaluate its degradation, durability, and usability of its antifungal potential. Respirometry was used to quantify the release of carbon dioxide (CO₂) as an indicator of microbial activity. The results showed that the presence of lapachol increased the release of CO₂ in all three soil types, indicating higher microbial activity in the presence of the compound. Degradation was slower than expected for three soil types, indicating good persistence. Notably, clayey soil showed the greatest increase in microbial activity in the presence of lapachol, and possibly the shortest duration of action of the compound. In sandy soil, the interaction was lower, possibly indicating a longer duration of action for the compound. This study suggests that lapachol may be effective in controlling phytopathogens, particularly in sandy-textured soils. However, further research is required to understand the dynamics of lapachol degradation under different soil conditions and its potential impact on sustainable agricultural management.

Keywords: Latosols; Cerrado; Microbiota; Respirometry.

1. INTRODUÇÃO

O solo é um recurso natural essencial para o funcionamento dos ecossistemas, nos quais milhares de criaturas diferentes interagem e contribuem para a manutenção de processos vitais (SILVA et al., 2021). Bactérias e fungos nos solos são responsáveis por cerca de 90% da atividade microbiana, que é mediadora na formação deste ambiente e na estabilização de seus agregados, portanto, influenciando química e fisicamente cada solo (BALD et al. 2021).

O uso sustentável dos solos e o seu monitoramento por indicadores é de grande importância (SILVA, et al. 2021). A avaliação da comunidade microbiana permite avaliar e aferir danos ao ambiente, bem como estimar e interferir nas formas de manejo no meio agrícola. A biomassa microbiana constitui um indicador, já que ilustra alterações como em ciclagem de nutrientes, fertilidade, estoque de carbono e dinâmica da matéria orgânica (HOFFMANN et al., 2018). Portanto, ela indica a qualidade do solo, já que regula transformações e disponibilidade de nutrientes, o que influencia o modo ideal de uso do solo (FERNANDES et al., 2013).

O Cerrado é um bioma de savana tropical que cobre cerca de 2 milhões de Km², da região central do Brasil, cerca de 25% do seu território (SOARES et al., 2017). Aproximadamente 46% dos solos deste bioma são ocupados por latossolos (SANO et al., 2008). Estes são solos profundos (>2 m), muito intemperizados, ricos em óxidos de ferro e de alumínio, com teor de silte inferior a 20% e de argila entre 15% e 80%. Normalmente são ácidos, pouco férteis e muito permeáveis, exigindo correções de acidez e nutrientes, precaução com a irrigação e uso de cobertura, ou seja, recorrente manejo conservacionista (SOUSA & LOBATO, 2021).

A aplicação de herbicidas e outros químicos em cultivos agrícolas causa alterações na microbiota do solo e nos nutrientes presentes. Então, a biomassa no solo, o potencial de solubilização de compostos inorgânicos e a quantidade de CO₂ presentes podem ser afetados (RÉGO, 2013). Entretanto, nos últimos anos o uso de herbicidas e fungicidas à base de produtos naturais tem aumentado, abrindo portas para novas moléculas que possam reduzir a toxicidade e a persistência dos produtos no ambiente (ZIMMERMAN et al., 2020). Tal aumento consiste em resposta a recorrentes políticas sociais e ambientais que influenciam consumidores (KIM & PARK, 2017) e investidores (PARK & JANG, 2021), mas que também aumentam o valor de empresas e as diferenciam de concorrentes (PORTER et al., 2019).

Se o interesse social e de empreendedores se faz presente em cultivos agrícolas, então a avaliação de sua qualidade, incluindo a qualidade dos solos de cultivo ganha mais importância. E, dentre os modos de avaliação da qualidade dos solos, um parâmetro usado é a Respiração Microbiana ou Respiração Basal do Solo (RBS) (ALEF, 1995). A RBS caracteriza-se pela

oxidação da matéria orgânica por organismos aeróbios do solo, que utilizam o gás oxigênio (O₂) comoceptor final de elétrons, até a obtenção de gás carbônico (CO₂), podendo esse ser determinado por titulação ou por condutividade elétrica (DIONÍSIO et al., 2016). Os fatores que interferem diretamente na RBS são a umidade, temperatura, aeração e disponibilidade do substrato carbono-biomassa microbiana (BMS-C) (SILVA et al., 2007), todos altamente influenciáveis pela sustentabilidade dentro dos sistemas agrícolas. A respirometria, que se enquadra no método de RBS por titulação, é realizada através da avaliação da biodegradação de resíduos orgânicos com base na determinação da quantidade de oxigênio (O₂) consumido e de dióxido de carbono (CO₂) produzido pela decomposição da matéria orgânica encontrada nos resíduos (COSTA, 2009).

Dentro do contexto ligado à qualidade dos cultivos agrícolas, que inclui a importância de uso de técnicas conservacionistas, incluindo novas moléculas não agressivas ao meio, surge a possibilidade de uso do lapachol. O lapachol é um composto biologicamente ativo, que chama a atenção devido, por exemplo, às suas propriedades anticancerígena, anti-inflamatória, analgésica, antibiótica e antifúngicas (SANTOS, 2018). Pertence à classe das naftoquinonas, podendo ser isolado de várias espécies de plantas, principalmente do cerne de lenho do ipê-roxo *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos (HUSSAIN et al., 2012). Considerando a sua eficácia em inibição de fungos fitopatogênicos, é então, possível, conceber o seu uso nas lavouras através de tratamento de sementes ou da sua aplicação nos solos (por irrigação ou aplicação direta na superfície dos solos).

Sendo funcional, o lapachol pode ser usado para combater infestações como a do fungo fitopatogênico *Fusarium oxysporum* Sherb, que acomete lavouras agrícolas causando grandes danos (SHARMA & MARQUES, 2018). Contudo, testes sobre o efeito de novas moléculas sobre outros organismos da comunidade edáfica necessitam ser feitos, já que podem prejudicar outros organismos. É exemplo disto o estudo de Hoss (2022) sobre o efeito do fungicida de amplo espectro, mancozebe (um ditiocarbamato), sobre nematóides. Neste estudo, percebeu-se grande sensibilidade dos nematóides ao mancozebe, reforçando a importância de avaliação de riscos para novos pesticidas.

A respirometria vem sendo usada como indicadora de resistência da microbiota existente, bem como, o tempo de degradação de materiais no solo. Por exemplo, a avaliação da toxicidade de herbicidas e defensivos (TIRONI et al., 2009; RÉGO, 2013; FARIA et al., 2014; SIQUEIRA, 2021), a toxicidade de detritos agroindustriais (DECESARO, 2016) e a viabilidade

de uso de atenuantes de toxicidade no solo (FARIA & MARQUES, 2019) têm usado a respirometria, demonstrando sua multifuncionalidade.

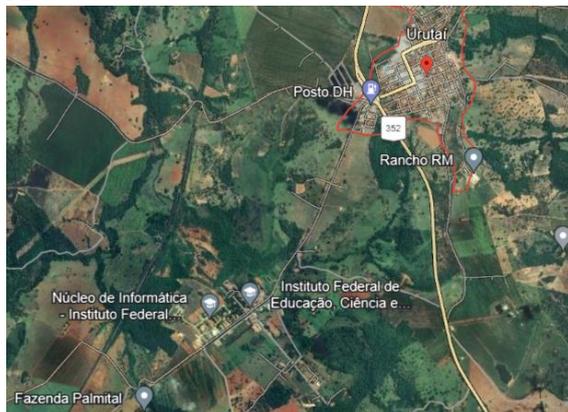
Em relação aos estudos que vêm sendo realizados tratando o lapachol como um produto natural com grande potencial para uso antifúngico, por meio de buscas no Periódico CAPES, absolutamente nenhum estudo foi desenvolvido com o intuito de compreender como este composto reage no ambiente natural. Não se sabe sobre a sua persistência no solo ou sobre a sua taxa de degradação. Também não se sabe como fatores abióticos como pH, umidade, temperatura e composição dos solos poderiam influir sobre a sua persistência. Confirma-se então, uma lacuna no conhecimento e a necessidade de investigação científica. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi utilizar a respirometria como parâmetro de avaliação das possíveis interferências da adição do lapachol em latossolos de texturas média, argilosa e arenosa da região de Urutaí – GO, avaliando a reação da atividade microbiana, bem como a capacidade da microbiota em degradar o substrato.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do lapachol

O cerne de *H. impetiginosus* foi obtido por poda de um galho da árvore localizada nas dependências do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí (Fazenda Palmital - Zona Rural de Urutaí, GO, coordenadas 17° 29' 52" S; 48° 13' 06" W; (Figura 12). Uma excicata botânica acompanhada por informações de local de coleta, data, habitat e nome do coletor será preparada na próxima florada para envio a herbário para confirmação da identificação e classificação taxonômica do espécime, bem como servir como registro permanente do espécime. O galho obtido foi submetido a lapidação em esteira de corte evidenciando apenas o cerne de coloração escura e posteriormente passou por triturador de madeira obtendo assim a serragem.

A



B

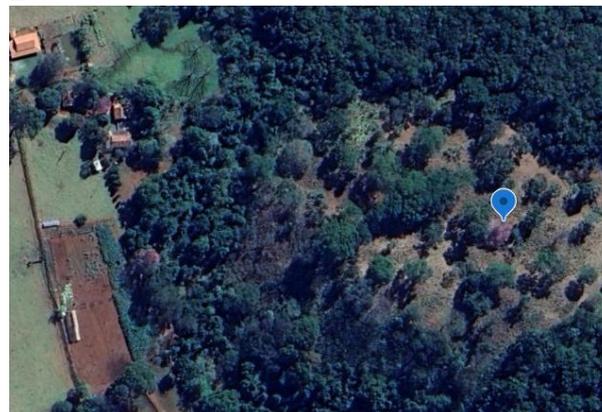


Figura 12 - Localização da Fazenda Palmital em Urutaí, GO, onde foi coletado galho de ipê-roxo. Em 12A, uma visão geral do município e do campus. Em 12B, a posição exata em que se encontra a planta utilizada para a extração do cerne e obtenção do lapachol.

Foi adaptada a metodologia proposta por Ferreira (1996) para extrair o lapachol em grande escala. Aproximadamente 1,5 kg de serragem foi disposta em barrilete, junto de 8 litros de solução de concentração de 1% de carbonato de sódio (Na_2CO_3). Tal solução garantiu a completa imersão da serragem na solução. A mistura e agitação da solução com a serragem foi realizada com auxílio de colher de madeira durante aproximadamente duas horas com intervalos de 10 à 15 minutos. Posteriormente a solução foi deixada em repouso por 24 horas. Em peneira de malha 8 foi feita a filtragem da solução extratora, de cor avermelhada. Tal filtragem permitiu a retirada da serragem. Uma nova filtração, desta vez em filtro de nylon, foi feita para retirar as demais sujidades. Toda a serragem obtida da filtragem foi submetida mais uma vez à solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) em concentração de 1%, passando novamente pelo processo anterior.

Uma solução de ácido clorídrico (HCl) 6 mol L^{-1} foi lentamente adicionada ao filtrado até a observação de uma coloração amarelada, incluindo a formação de precipitado. Tais fatos caracterizam a extração completa. Por meio de filtração à vácuo, o precipitado foi recolhido e posteriormente, seco em dessecador. Por fim, foi diluído novamente em diclorometano, filtrado, e em temperatura ambiente foi deixado para recristalização.

2.2 Coleta dos solos

A fim de avaliar o comportamento da microbiota nativa na degradação do lapachol, foram coletados latossolos de três diferentes texturas, sendo estas, representativas das proximidades dos municípios de Ipameri e de Urutaí, no estado de Goiás. Assim foram usados o solo de textura arenosa da Fazenda Santo Antônio localizada no Povoado da Vendinha nas coordenadas $17^\circ 42' 05'' \text{ S}$, $48^\circ 21' 25'' \text{ W}$ em Ipameri – GO; o solo de textura argilosa da Fazenda Tereza localizada no Povoado da Vendinha nas coordenadas $17^\circ 42' 00'' \text{ S}$, $48^\circ 21' 33'' \text{ W}$ em Ipameri-GO e; o solo de textura média na área de Pivô do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí nas coordenadas $17^\circ 29' 53'' \text{ S}$, $48^\circ 13' 08'' \text{ E}$ em Urutaí – GO. As três localidades são apontadas na figura 13.



Figura 13 - Localização das regiões de obtenção das amostras de solo. Em A, localização da Fazenda Tereza (marcador vermelho) e da Fazenda Santo Antônio (marcador azul). Em B, localização da Área de Pivô, no IF-GO.

A coleta foi realizada utilizando enxada em área previamente identificada. Na Fazenda Santo Antônio foi realizada nos talhões 13 e 14 (Figura 14). Tais talhões têm histórico de plantio anterior de milho e soja, com índices de 25% de argila, 10% de silte e 65% de areia, caracterizando solo arenoso e contendo 2,50% de matéria orgânica (dados disponíveis no Anexo 6.1). Nesta fazenda a amostragem foi tomada em três pontos para cada talhão, de modo aleatório e com distâncias de cerca de 10 metros entre eles. A profundidade de 0-20 cm foi usada para a coleta do solo.

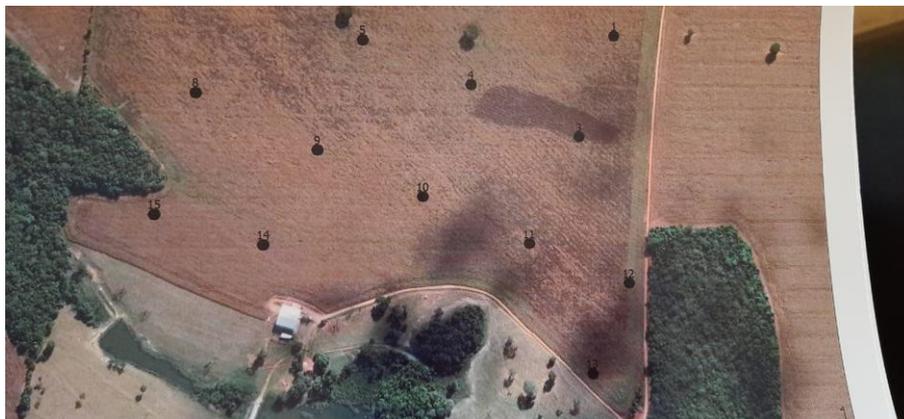


Figura 14 – Localização dos pontos de coleta fazenda St. Antônio.

Para área da fazenda Tereza a coleta foi realizada nos talhões 29 e 30 (Figura 15), com histórico de plantio anterior de girassol e sorgo, tendo 55% de argila, 15% de silte e 30% de areia, caracterizando solo argiloso, contendo 1,40% de matéria orgânica (dados em Anexo 6.2). Com realização de 3 pontos de coleta para cada talhão, feitos de forma aleatória com distâncias de +/- 10 metros entre eles, em profundidade de 0-20 cm, em campo sem a presença de serapilheira.



Figura 15 - Localização dos pontos de coleta na Fazenda Tereza.

No Pivô, novamente foram obtidos três pontos, ao acaso, para a coleta de solos. Os três também estiveram a 20 metros de distância e o solo foi obtido na profundidade de 0-20 cm. Entretanto, não há histórico de plantios nos últimos 10 anos. Não há então, detalhamento técnico de porcentagem de silte, argila, areia e matéria orgânica neste solo. Apesar disso, diversos professores que fizeram uso da área no passado, relatam se tratar de solo com textura média.

As coletas de cada área foram homogeneizadas, e do conjunto foram retiradas amostras de testes. Cada amostra passou por peneiramento, foi adequadamente identificada com o seu número, data, local de coleta e nome de coletor. Após o acondicionamento em plástico, foram todas levadas ao laboratório para refrigeração a 24 °C para posterior realização do experimento.

2.3 Respirometria

A respirometria tem como objetivo definir padrões metabólicos dos microrganismos. Assim, ela é fundamentada na avaliação da respiração aeróbia, por meio da quantificação da liberação de dióxido de carbono por meio de sua captura (C-CO₂). O seu procedimento nas amostras de solo foi possível por meio da execução das seguintes etapas, adaptadas de SILVA (et al., 2007): avaliação da capacidade máxima de retenção de água, análise da umidade natural do solo, incubação, titulação e teste estatístico.

Capacidade de Retenção de Água (CRA)

Foram pesados 10 g de solo em copos de plástico previamente perfurados, que foram colocados sobre placa de Petri contendo água destilada. Os furos permitem a entrada de água e absorção da mesma pelo solo. Após a absorção da água, o solo umedecido tem peso diferente, portanto desse solo umidificado foram retiradas amostras de 10 g e colocadas em placas de Petri

previamente identificadas e levadas para secagem em estufa a 60 °C, até peso constante. Com esse valor, foi calculada a capacidade de retenção de água em cada solo.

Umidade Natural do Solo

Foram pesadas placas de Petri identificadas, cujos pesos foram previamente registrados. Em seguida pesados 10 g de cada solo e colocados em estufa a 60 °C para secagem pelo período de 48 horas. Posteriormente o conjunto placa de Petri e solo seco foram pesados e o valor foi registrado. A diferença entre o peso total inicial e o final representa umidade natural de cada solo.

Incubação

A montagem do sistema de análise foi iniciada adicionando 25 g de solo à 10 frascos, adicionado em cada frasco 1,5 mL de água destilada para solos de textura arenosa e argilosa e 2 mL para solo médio garantindo a correção da umidade para 70% de capacidade de retenção de água (CRA) (Figura 16A). Destes frascos, cinco foram separados e aos demais cinco frascos foram adicionados 0,5 g de lapachol, misturados junto ao solo com auxílio de bastão de vidro (Figura 16B). A quantidade de lapachol colocada foi determinada através de testes preliminares, buscando utilização mínima da substância. No sistema de análise também foram conduzidos frascos vazios, denominados brancos, a fim de analisar a captura de CO₂ do próprio sistema.

Em todos os frascos foi adicionado um béquer suspenso contendo 15 mL de solução armadilha de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N e posteriormente vedados com película vedante *parafilm* e suas respectivas tampas (Figura 16C).

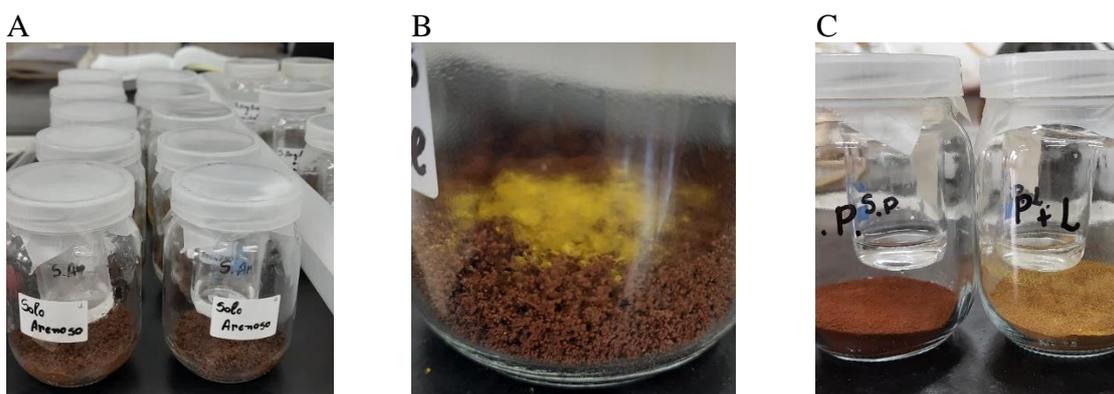


Figura 16 - Frascos experimentais montados. Em A, visão geral do experimento, em B, adição do lapachol ao solo, em C, ilustração do posicionamento dos béqueres.

Os frascos, previamente identificados, foram mantidos hermeticamente fechados em câmara incubadora B.O.D a 28 °C. Esse processo foi realizado para as três texturas de solos. A quantificação do carbono – dióxido de carbono (C-CO₂) desprendido pela atividade microbiana

foi realizada periodicamente através da titulação do NaOH remanescente com solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 N de acordo com metodologia proposta por Alef (1995).

2.4 Análise Estatística

Foram utilizadas estatísticas T de Student para comparar o volume total de carbono desprendido ao final dos experimentos com os solos. Assim, para cada solo, arenoso, argiloso e médio, foi realizado um teste. As variáveis utilizadas foram a quantitativa dependente, “carbono desprendido” e a categórica binária independente, “presença de lapachol”. Quando o pressuposto de homogeneidade de variâncias não foi atendido, foi utilizada a estatística T de Student com as variâncias calculadas em separado, capaz de prevenir problemas que podemos ter, sob circunstâncias de quebra de pressupostos para o teste.

Foram realizadas Análises de Variâncias *two-way* com medidas repetidas no tempo (ANOVA 2-way) para cada um dos três tipos de solos estudados, arenoso, argiloso e médio. Este tipo de análise foi necessário devido à repetição, no tempo, de medidas de desprendimento de carbono nas mesmas unidades amostrais. Assim, foram utilizados, para cada tipo de solo, os fatores “presença de lapachol”, com dois níveis (presente e ausente), o “tempo”, que consistiu das 15 diferentes aferições do carbono desprendido, além da interação entre os dois fatores. Para cada resultado significativo obtido das ANOVAS, foram feitas comparações a posteriori por meio de intervalos de confiança de 95% (IC95%). Tais IC95% foram apresentados em figuras para o valor de carbono desprendido dos solos em função dos fatores “presença de lapachol” e “tempo”, além da interação entre ambos. Todas as análises foram feitas considerando o nível de 5% de significância, por meio do uso do software Statistica 64 v.13 (Licença JPZ804I376009FA-9 para o orientador do estudo).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Extração do lapachol

O tronco do Ipê Roxo foi manuseado até que fosse observado apenas seu cerne, resultando em 7,031 kg de serragem. O cheiro característico, acentuado conforme manuseio, e sua coloração preta evidente são as características que identificam um bom cerne, características presentes na amostra coletada. A confirmação da espécie por caracterização especializada de exsicata será realizada durante a próxima estação reprodutiva da planta.

Para a extração, 6,340 Kg da serragem foram colocados em barrilete de 50 L, acrescidos de 20 L de solução 1% de carbonato de sódio (Na_2CO_3) e feita mistura/agitação durante aproximadamente 30'. Posteriormente deixada em repouso durante 24 horas. O carbonato de sódio é um sal básico, capaz de desprotonar a hidroxila presente no lapachol (1) originando a espécie iônica (2) solúvel em água e possui coloração avermelhada (Figura 17).

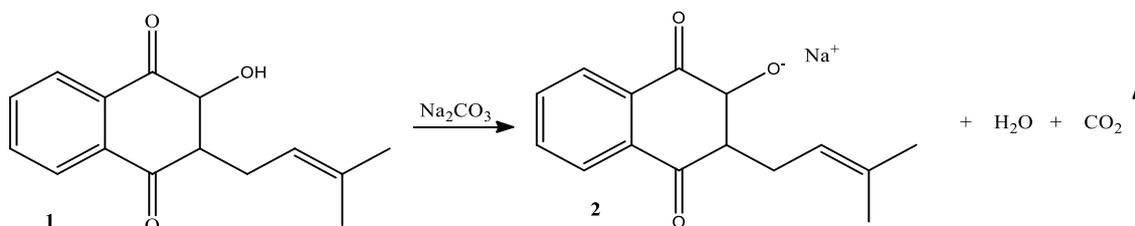


Figura 17 - Reação 1 Ácido base: Momento de ionização do lapachol (1) em solução de carbonato de sódio.

Após a extração a serragem foi filtrada e em seguida, feita a adição da solução de HCl 6 mol L^{-1} em constante agitação. A mudança de coloração foi observada passando de um vermelho forte quase como café para um tom amarelado com formação de espuma. Após observação de coloração amarela constante, a solução foi deixada em repouso para decantação da fase sólida.

Quando a solução extratora é acidificada pela solução de HCl, a hidroxila do lapachol é novamente protonada. O lapachol protonado é insolúvel em água e apresenta coloração amarelada (Figura 18).

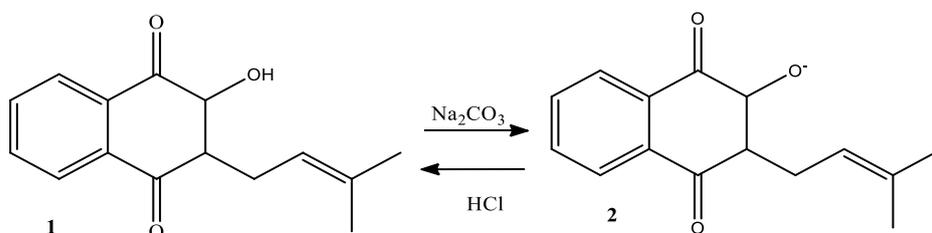


Figura 18 - Reação 2 Ácido base: Momento da protonação e desprotonação do lapachol.

O sólido amarelo foi separado por filtração a vácuo e seco à temperatura ambiente. Em seguida, colocado em diclorometano e filtrado para a retirada de impurezas. O diclorometano foi evaporado à temperatura ambiente para a recristalização do lapachol. Todo o processo está representado pela figura 19.

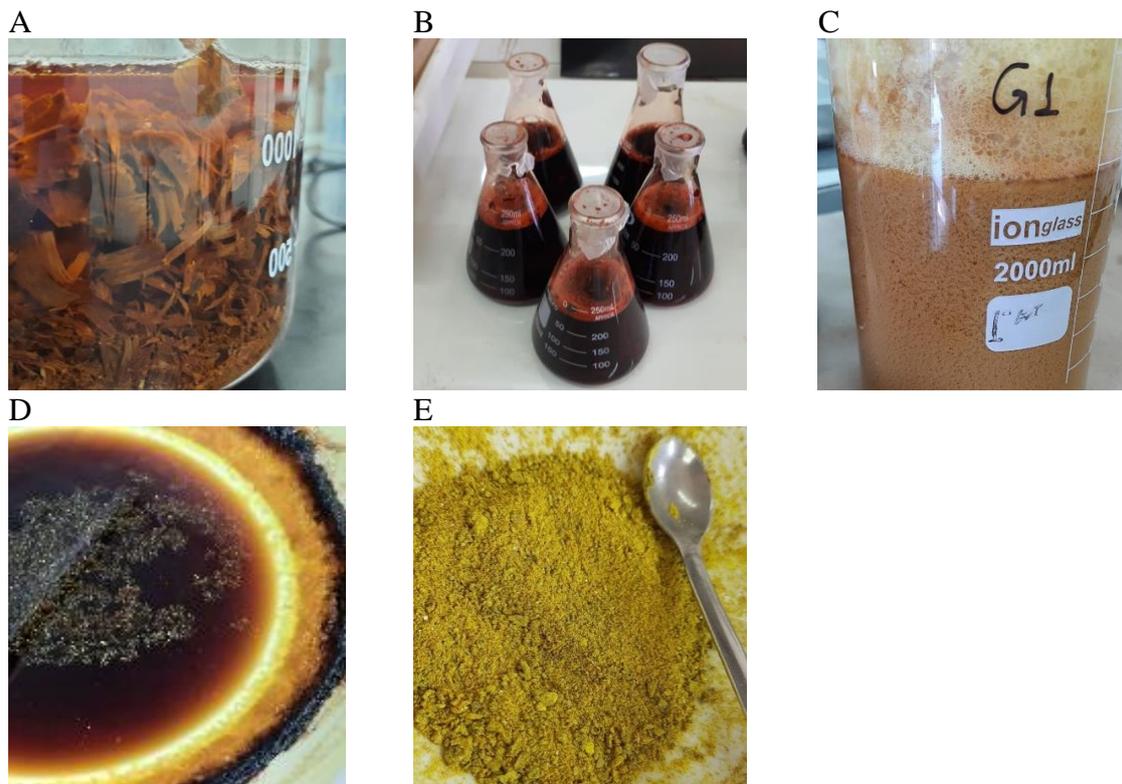


Figura 19 - Serragem em solução 1% de carbonato de sódio Na_2CO_3 (A); Solução extratora após 24h (B); Solução acidificada HCl 6 mol L^{-1} e decantação de fase sólida (C); Evaporação de diclorometano e recristalização do lapachol (D); Produto final (E).

3.2 Respirometria

As titulações foram realizadas por 51 dias buscando valores constantes da leitura de NaOH remanescente nos frascos e do desprendimento de C-CO_2 . As leituras seguiram um intervalo de 24h durante os sete primeiros dias, depois com intervalos de 48h, 96h, 168h e 216h perfazendo os 51 dias analisados. Os valores obtidos para C-CO_2 nas repetições para cada amostra foram calculados em médias e apresentados na Tabela 1, sendo possível observar valores negativos entre as médias. Também se observa que os valores não atingiram uma constante, indicando que o lapachol ainda não havia sido consumido por completo.

A quantidade de solução armadilha disposta durante o ensaio foi colocada de acordo com o valor de titulação obtido em dia de leitura. Sendo assim, essa quantidade teve variações de 10 à 25 mL. No entanto, a atividade da microbiota passa por picos de consumo de CO_2 , fazendo com que algumas amostras no momento de titulação não apresentassem NaOH remanescente, sendo calculado como erro. Assim surgiram alguns resultados negativos provenientes de leituras zeradas.

Tabela 1 - Média de consumo de C-CO₂ em 51 dias (em mg C-CO₂ 25g s.f).

Tipo de solo	Dia de incubação														
	1	3	4	5	6	7	9	11	15	18	22	29	35	42	51
S. Arenoso	1,15	1,51	0,84	1,35	-0,50	0,25	0,79	0,88	2,60	0,95	1,59	-7,25	1,69	1,79	1,84
S. Arenoso + Lapachol	1,66	2,61	5,54	5,81	0,92	2,15	2,96	4,69	7,59	5,96	5,50	6,09	5,98	5,66	4,57
S. Argiloso	0,48	0,31	0,20	-0,20	-0,58	-0,10	0,13	1,68	1,21	0,65	0,37	0,22	0,68	0,76	0,39
S. Argiloso + Lapachol	0,86	2,61	2,72	1,18	-0,05	0,92	1,32	2,26	1,71	2,66	2,57	2,71	3,81	4,20	3,91
S. Médio	0,55	0,70	0,12	0,11	1,38	1,36	2,14	2,65	2,56	2,82	2,80	0,83	2,23	2,22	2,57
S. Médio + Lapachol	0,17	0,88	0,17	-0,09	-0,35	-0,04	0,38	1,07	1,17	2,03	1,71	2,24	4,95	5,80	7,04

Em relação ao consumo de C-CO₂ total (C_{total}), este foi aproximadamente 3,4 vezes superior na presença do lapachol para o solo arenoso (T=-28,517; g.l.=8; p<0,001; Figura 20A). Já no solo argiloso, esta diferença foi bem maior, cerca de 4,8 vezes quando o lapachol estava presente (T_{var.sep.}=-15,951; g.l.=4,026; p<0,001; Figura 20B). E, por fim, no solo médio, a diferença foi de 3,1 vezes superior, na presença do lapachol (T=-47,508; g.l.=8; p<0,001; Figura 20C).

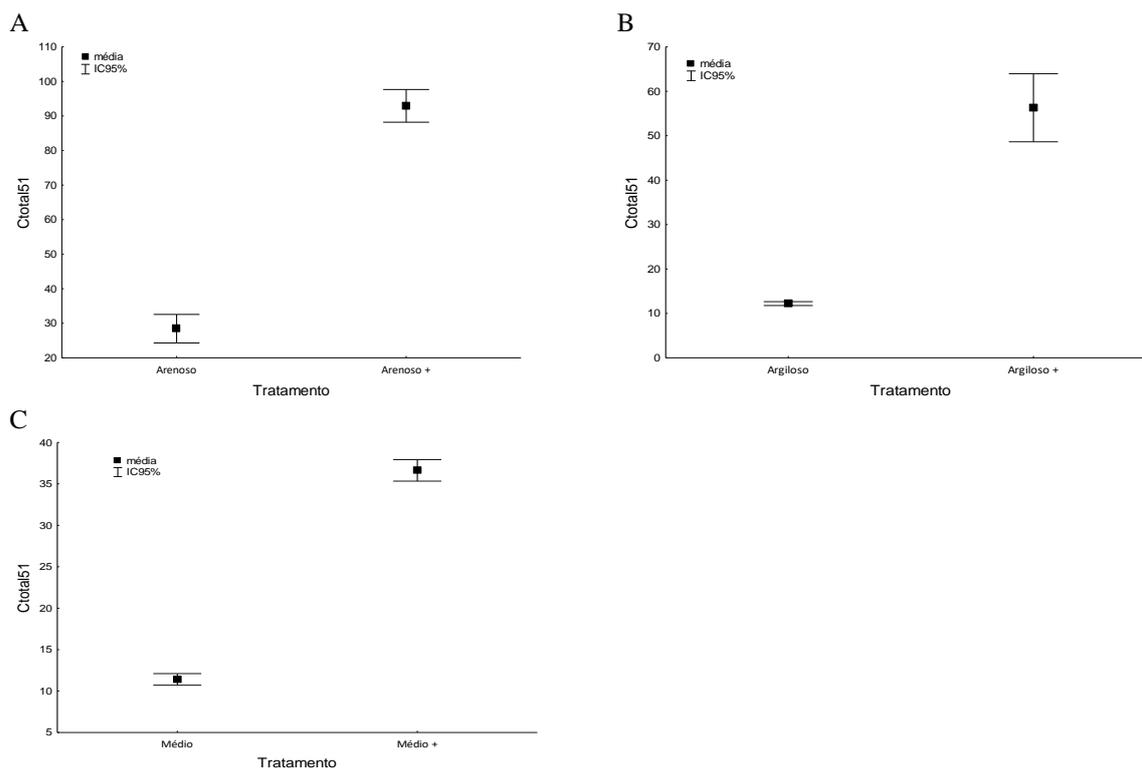
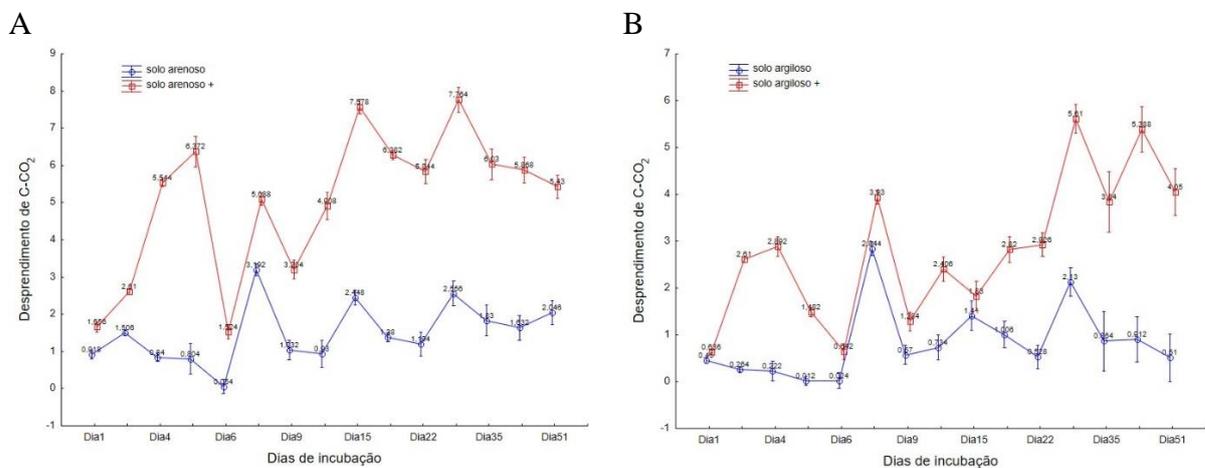


Figura 20 - Carbono total (C_{total} 51) obtido para os solos estudados. Em A, solos arenosos sem (Arenoso) e com lapachol (Arenoso +); em B, solos argilosos sem (Argiloso) e com lapachol (Argiloso +); em C, solos médios sem (Médio) e com lapachol (Médio +). As medidas de variação representam o intervalo de confiança de 95% (IC95%) e a sobreposição do intervalo de um tratamento sobre a média de outro tratamento, representa igualdade estatística.

Comparando-se as leituras do consumo de carbono obtidas diariamente para solos arenosos, observa-se superioridade quando na presença de lapachol (F_(1,8)=9573,270; p<0,001).

Também observa-se o aumento com o tempo ($F_{(14,112)}=215,980$; $p<0,001$). Mas, detectou-se também, efeito significativo da interação entre tratamentos e tempo ($F_{(14,112)}=93,480$; $p<0,001$; Figura 20A), o que nos leva à necessidade de interpretar a interação para o entendimento do fenômeno. Para solos argilosos, os resultados consistentemente foram os mesmos obtidos para os arenosos. Portanto, quando adicionado lapachol a quantidade de carbono foi maior ($F_{(1,8)}=2052,147$; $p<0,001$). Do mesmo modo, a quantidade de carbono aumentou com o tempo ($F_{(14,112)}=116,505$; $p<0,001$) e houve efeito da interação ($F_{(14,112)}=44,482$; $p<0,001$; Figura 20B) entre os dois fatores. Por fim, para solos médios, foi obtido novamente, o mesmo padrão de respostas. No solo com lapachol há maior detecção de carbono ($F_{(1,8)}=395,999$; $p<0,001$), há efeito do tempo aumentando a detecção de carbono ($F_{(14,112)}=170,111$; $p<0,001$) e há interação significativa entre estes dois fatores ($F_{(14,112)}=108,041$; $p<0,001$; Figura 20C).

Na figura 21A são apresentados os resultados de desprendimento de CO_2 em mg/L para cada dia de titulação, sendo observado que a diferença de desprendimento para solos de textura argilosa e arenosa são mais intensos quando comparados com solo de textura média. Já o solo arenoso (Figura 21B), mesmo sem adição de lapachol, é notável pequenas variações no desprendimento de C- CO_2 no período avaliado, identificando assim uma variabilidade natural na atividade microbiana do solo. O solo de textura média (Figura 21C) apresenta uma estabilidade e não apresenta alterações quanto ao desprendimento de CO_2 quando na presença de lapachol, com diminuição da atividade na microbiota durante os cinco primeiros dias, fator esse favorável para preservação de nutrientes para o solo. E permanecendo até o décimo primeiro dia com baixa atividade, ainda favorecendo a biomassa presente. Sendo observado início de intensificação das atividades apenas a partir do décimo quinto dia, e ativando uma constante crescente dessa atividade.



C

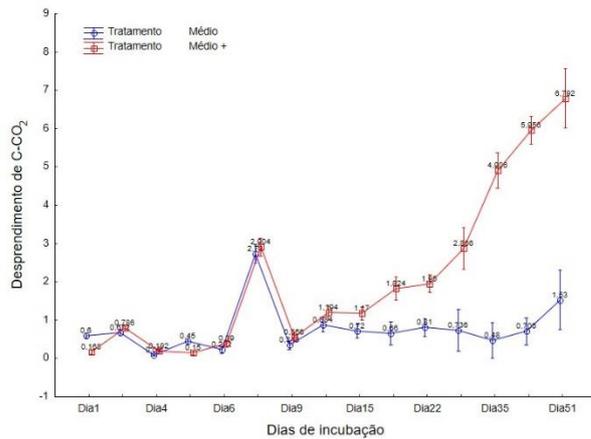


Figura 21 - Carbono aferido para solo de textura argilosa (A), solo de textura arenosa (B) e solo de textura média (C) com a presença de lapachol, linhas em vermelho, e sem o lapachol, linhas em azul. As medidas de variação representam o intervalo de confiança de 95% (IC95%) e a sobreposição do intervalo de um tratamento sobre a média de outro tratamento, representa igualdade estatística.

4. DISCUSSÃO

A importância da agricultura para o planeta é incontestável, já que permite segurança alimentar a sociedades e desenvolvimento de comércio (CURNONE, 2017). Indiscutivelmente a provisão de alimentos é sua função primária (WU et al., 2014). Dentro deste contexto, o solo emerge como um recurso natural essencial para o funcionamento dos agroecossistemas, e sua qualidade é um atributo fundamental para o desenvolvimento sustentável das culturas agrícolas, e garantia de alimentos para a sociedade (SILVA, 2021).

O manejo impróprio e intensivo do solo pode provocar gradativamente a sua degradação, processo que em alguns casos pode ser irreversível (WILLIAMS et al., 2020). Por isso, há algumas décadas, tem aumentado o interesse científico a respeito de efeitos da exploração agrícola intensiva sobre a qualidade do solo e a sustentabilidade agrícola (LAL & PIRCE, 1991).

O uso da respirometria visou avaliar as interações do lapachol com solos de diferentes texturas e analisar a sua persistência para o controle de fitopatógenos. Tal propósito é reflexo de uma pressão internacional em busca por tecnologias que permitam a produção de alimentos e a concomitante conservação de recursos naturais (HENNERON et al., 2015) e os resultados obtidos representam uma análise inicial da resposta da microbiota à presença do lapachol.

O C-CO₂ obtido das amostras é proveniente da atividade microbiana do meio. Esse valor representa o grau de interferência que pode ser encontrado para cada solo na presença do lapachol. No experimento realizado, pôde-se notar maior obtenção de C-CO₂ para os três solos

estudados, quando na presença de lapachol. Isso pode ser explicado pelo efeito *priming*, onde a adição de resíduo orgânico ativa a microbiota do solo, resultando em maior degradação de compostos orgânicos, tanto o adicionado quanto o material orgânico já presente no solo (KUZUYAKOV, 2010).

Também foi observado que em solo argiloso, a diferença de C-CO₂ entre solos com e sem lapachol é maior, em comparação com solos arenosos ou de textura média, podendo indicar maior atividade biológica neste solo. De fato, De-Léon González et al. (2018) ilustram que os padrões de respiração em diversos solos são correspondentes aos níveis de carbono orgânico total contido no solo, que por sua vez, funciona como substrato para os micro-organismos. Tal explicação se ajusta aos recorrentes maiores teores carbono orgânico total em solos argilosos em função da maior capacidade de retenção de água e nutrientes que promove condições mais favoráveis para o acúmulo e a estabilização da matéria orgânica (FILIP, 1973).

Contudo, com maior atividade biológica, é então possível que o lapachol será mais rapidamente degradado em comparação aos solos arenosos e de textura média. Possivelmente, isso deve acarretar menor tempo de residência da substância no solo e menos força de ação inibitória aos fitopatógenos.

A duração de 51 dias de teste, com ainda lapachol por ser consumido, permite a interpretação de boa persistência do lapachol junto aos solos estudados, apesar da evidente e contínua interação com a microbiota do solo. Durante a decomposição de compostos orgânicos, os microrganismos utilizam o C e os nutrientes liberados na decomposição e aumentam a biomassa. Porém, a biomassa microbiana, que é considerada uma fração viva da matéria orgânica do solo, tem rápida ciclagem, ou seja, morre rapidamente, sendo decomposta por outros microrganismos (SOUZA, 2010). Essa decomposição da biomassa microbiana morta faz com que haja novamente ativação dos microrganismos viáveis do solo e os valores de CO₂ liberados voltam a aumentar, mostrando um efeito aparentemente cíclico da atividade microbiana e da ciclagem de nutrientes no solo.

Tanto para o solo arenoso como para o argiloso, observou-se um aumento inicial no desprendimento de C-CO₂ no início do período de incubação, sendo resultado da ativação inicial da microbiota do solo. Porém, durante a incubação consegue-se identificar uma proximidade entre os valores desprendidos de C com e sem o lapachol a partir do sexto dia, resultando numa estabilização mais rápida do solo quando da adição de substâncias orgânicas. Contudo, após o nono dia de incubação em solo arenoso e o 22º dia em solo argiloso, pode-se

observar novo expressivo aumento no desprendimento de C-CO₂ no solo com adição do lapachol. Isso pode ser decorrente da ciclagem de carbono da biomassa microbiana do solo.

No solo de textura média, observa-se uma estabilidade, sem grandes alterações quanto ao desprendimento de CO₂ na presença de lapachol. Foi ainda observado uma diminuição da atividade na microbiota até o sexto dia de incubação, fator favorável para preservação do lapachol. A partir do 11º dia de incubação, iniciou-se uma crescente na atividade biológica. Tal comportamento, se recorrente, faz deste o solo o mais propício à aplicação do lapachol, já que sua maior estabilidade deve conferir mais interferência negativa na atividade de fitopatogênicos.

É estimado que a insegurança alimentar no planeta, entre 2019 e 2022 aumentou em mais 122 milhões de pessoas no planeta e, especificamente o Brasil são cerca de 70 milhões nesta condição (FAO et al., 2023). Mesmo assim, a agricultura ainda enfrenta desafios de grandes proporções, como as mudanças climáticas e as pestes agrícolas (MALEK et al., 2018; MENEGAT et al., 2022; SKENDŽIĆ et al., 2021) e busca por tecnologias que permitam a preservação de recursos (JAT et al., 2020). Dentro deste contexto situa-se o foco que este estudo teve e deste contexto retira-se o mérito obtido por revelar pela primeira vez observações sobre o comportamento de micro-organismos sobre o lapachol e expectativas de sua decomposição em três diferentes solos.

Apesar disso, emergem novas demandas de pesquisa. Por exemplo, quantos dias a substância se manterá intacta em solo? Como o pH, umidade e temperatura interagirão com a disponibilidade de lapachol? Testes *in vitro* e *in vivo* obterão respostas similares? O uso do lapachol incorporado ou aplicado na superfície dos solos afetará a sua decomposição? Futuros estudos que busquem responder a tais perguntas e a outras, estarão fatalmente colaborando não somente para a produção de alimentos, mas também, para a preservação de biodiversidade já que o uso desta molécula poderá auxiliar no controle de fitopatógenos, aumentando a produtividade, reduzindo a pressão agrícola sobre novas áreas e ainda, auxiliando na manutenção da biodiversidade pela evitação da fragmentação ambiental mas também, por utilizar mais uma técnica conservacionista na produção de alimentos.

5. CONCLUSÃO

Nos três solos, de textura arenosa, argilosa e média, a captura de C-CO₂ foi maior na presença do lapachol. Na presença de lapachol, o incremento de C-CO₂ foi maior no solo argiloso, chegando a 480% de incremento. Nos três solos a quantidade de C-CO₂ incrementou com o tempo. Para os três solos, a degradação de lapachol é lenta e não alcançou o pico em 51 dias.

A menor quantidade de C-CO₂ em solo arenoso, sugere este ambiente como o mais promissor para uso e expressão da atividade de lapachol sobre micro-organismos fitopatogênicos.

6. REFERÊNCIAS

- Alef, K. Estimation of soil respiration. In: Alef, K. & Nannipieri, P. (Ed.). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. London: Academic Press, p.214-219, 1995.
- Bald, D. R. Q.; Rangel, C. P.; Vargas, A. F.; Girão, K. T. & Passaglia, L. M. P.. Microbiota do solo: a diversidade invisível e a sua importância. *Revista Bio Diverso*, Vol. 1: Conservação & Desenvolvimento Sustentável, p. 101-131, 2021.
- Costa, J. B. *Caracterização e constituição do solo*. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1979. 527 p., 2009.
- Curnoe, D.. Was agriculture the greatest blunder in human history? *The Conversation*, 2017. Disponível em: <<https://theconversation.com/was-agriculture-the-greatest-blunder-in-human-history-85898>>.
- Decesaro, A. *Produção de biossurfactantes a partir de resíduos da indústria de laticínios para aplicação em processos de biorremediação*. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Departamento de Infraestrutura e Meio Ambiente, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2016.
- De-Léon González, F.; Ponce, M.H.F.; Cruz, A.B.; Pablo, T.L.; Juárez, H.C.; Sánchez, L.M.R. Cactus crop as an option to reduce soil C–CO₂ emissions in soils with declining fertility. *Agron. Sustain. Dev.*, 38, 8, 2018.
- Dionísio, J. A.; Pimentel, I. C.; Deon, D. S.; Paula, A. M.; Maceda, A. & Mattana, A. L.. *Guia prático de biologia do solo*, Sociedade Brasileira de Ciências do Solo Núcleo Estadual do Paraná, Curitiba: SBCS: NEPAR, 2016.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP, & WHO. *Food security and nutrition in the World*. FAO, 2023. doi: 10.4060/cc3017en.

- Faria, A. T. et al. Efeitos de herbicidas na atividade da microbiota rizosférica e no crescimento da cana-de-açúcar. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1024-1032, 2014.
- Faria, B. T.; Marques, A. R. Excremento de cavalo como amenizante da toxidez de sais de bário na microbiota do solo. In: II Congresso SulAmericano de Resíduos Sólidos e Sustentabilidade, 2019, Foz do Iguaçu. *Anais...* Foz do Iguaçu, Pr, 2019.
- Fernandes, M. M; Silva, M. D; Veloso, M. E. C; Oliveira, T. M; Fernandes, M. R. M. & Sampaio, F. M. T. Biomassa microbiana e matéria orgânica em áreas desertificadas revegetadas com pinhão-mansolteiro e consorciado com gramínea no Sui do Piauí. *Rev. Bras. de Ciênc. Agrar.*, v. 8, p. 464-469, 2013.
- Ferreira, V. F.. Aprendendo sobre os Conceitos de Ácidos e Bases. Experimentação no Ensino de Química. *Química Nova na Escola - Conceitos de Ácido e Base N° 4*, Novembro, 1996.
- Filip, Z.. Os minerais da argila como fator de influência na atividade bioquímica dos microrganismos do solo. *Folia Microbiologica*, v. 18: 56–74, 1973.
- Henneron, L., Bernard, L., Hedde, M., Pelosi, C., Villenave, C., Chenu, C., Bertrand, M., Girardin, C., & Blanchart, E.. Fourteen years of evidence for positive effects of conservation agriculture and organic farming on soil life. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(1), 169–181, 2015.
- Hoffmann, R. B.; Moreira, E. E. A.; Hoffmann, G. S. S.; Araújo, N. S. F. Efeito do manejo do solo no carbono da biomassa microbiana. *Braz. J. Anim. Env. Res.*, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 168-178, jul./set. 2018.
- Höss, S., Reiff, N.; Asekunowo, J. & Helder, J.. Nematode Community of a Natural Grassland Responds Sensitively to the Broad-Spectrum Fungicide Mancozeb in Soil Microcosms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 41, 10:2420-2430, 2022.
- Hussain, H.; Krohn, K.; Ahmad, V. U.; Miana, G. A.; Greend, I. R.. Lapachol: An overview. *Arkivoc*, v. 2007, N° 2, p. 145, 2012.
- Jat, M. L., Chakraborty, D., Ladha, J. K., Rana, D. S., Gathala, M. K., McDonald, A., & Gerard, B.. Conservation agriculture for sustainable intensification in South Asia. *Nature Sustainability*, 3(4), 336–343, 2020.
- Kim, W., & Park, J.. Examining Structural Relationships between Work Engagement, Organizational Procedural Justice, Knowledge Sharing, and Innovative Work Behavior for Sustainable Organizations. *Sustainability*, 9(2), 205, 2017.

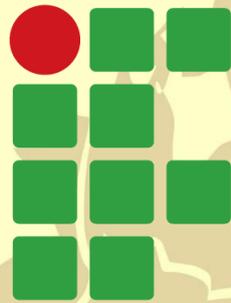
- Kuzyakov, Y. Priming effects: interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 1363-1371, 2010.
- Lal, R. & Pierce, F.J. The vanishing resource. In: Lal, R. & Pierce, F.J., eds. *Soil management for sustainability*. Ankeny, Soil Water Conservation Society, p.1-5, 1991.
- Malek, K., Adam, J. C., Stockle, C. O., & Peters, R. T.. Climate change reduces water availability for agriculture by decreasing non-evaporative irrigation losses. *Journal of Hydrology*, 561, 444–460, 2018.
- Menegat, S., Ledo, A., & Tirado, R.. Greenhouse gas emissions from global production and use of nitrogen synthetic fertilisers in agriculture. *Scientific Reports*, 12, 14490, 2022.
- Park, S. R., & Jang, J. Y.. The Impact of ESG Management on Investment Decision: Institutional Investors' Perceptions of Country-Specific ESG Criteria. *International Journal of Financial Studies*, 9(3), 48, 2021.
- Porter, M. E., Kramer, M., & Serafei, G.. *Where ESG Fails*, 2019. <<https://www.institutionalinvestor.com/article/2bswdin8nvg922puxdzwg/opinion/where-esg-fails>>.
- Régo, A. P. J. Avaliação da atividade microbiana em solo com o herbicida ametrina e adição de biofertilizante. 73 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Tecnologia e Inovação, Universidade Estadual de Campinas, Limeira, 2013.
- Sano, S. M.; Almeida, S. P De, Ribeiro, J. F. *Cerrado: Ecologia e Flora*. Embrapa Cerrados. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2 v. (1.279 p.). 2008.
- Santos, G. A. P. Utilização dos métodos alternativos no desenvolvimento e avaliação de formas farmacêuticas dermatológicas. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pernambuco, Recife, 2018.
- Sharma, P.; Singh, A.; Kahlon, C.; Brar, A.; Grover, K.; Dia, M. & Steiner, R.. The Role of Cover Crops towards Sustainable Soil Health and Agriculture—A Review Paper. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 1935-1951, 2018. doi: 10.4236/ajps.2018.99140.
- Silva, E.E. da, Azevedo, P.H.S., De-Polli, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO₂). *Seropédica: Embrapa Agrobiologia*, 4 p. 2007.
- Silva, M. O.; Santos, M. P.; Sousa, A. C. P.; Silva, R. L. V.; Moura, I. A. A.; Silva, R. S. & Costa, K. D. S.. Qualidade do solo: indicadores biológicos para um manejo sustentável. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 6853-6875, jan., 2021. doi:10.34117/bjdv7n1-463

- Siqueira, B. Z. Monitoramento da atividade microbiana e ensaios ecotoxicológicos com o pesticida amicarbazone em solo agrícola. Trabalho de conclusão de (Licenciatura em Ciências Biológicas). Universidade Federal de São Carlos, Araras, SP, 2021.
- Skendžić, S., Zovko, M., Zivković, I. P., Lešić, V., & Lemić, D.. The impact of climate change on agricultural insect pests. In *Insects* (Vol. 12, Issue 5). MDPI AG, 2021.
- Soares, L. V., Melo, R., Oliveira, W. S., Souza, P. M., & Schmiele, M.. Brazilian Cerrado fruits and their potential use in bakery products. In H. Lewis (Ed.), *Bread: Consumption, cultural significance and health effects* (Chap. 5, pp. 125-160). New York: Nova Publisher, 2017.
- Sousa, J. M. S.; Lobato, M. Q.; Garcia, D. N. & Machado, P. C.. Abrasion resistance of Fe–Cr–C coating deposited by FCAW welding process, *Wear*, v. 476, 2021.
- Souza, E. D., et al.. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. Fragmento pesquisa de Tese de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. *R. Bras. Ci. Solo*, 34:79-88, 2010.
- Tironi, S. P. et al. Efeito de herbicidas na atividade microbiana do solo. *Planta Daninha*, v. 27, p. 995-1004, 2009.
- Williams, H., Colombi, T. & Keller, T. (2020). The influence of soil management on soil health: an on-farm study in southern Sweden. *Geoderma*, 360, Article 114010, 2020.
- Wu, W., Verburg, P.H. & Tang, H.. Climate change and the food production system: Impacts and adaptation in China. *Regional Environmental Change* 14(1):1–5, 2014.
- Zimmerman, J. B.; Anastas, P. T.; Erythropel, H. C.; Leitner, W.. Designing for a green chemistry future. *Science*, Vol. 367, p. 397-400, 2020.

ANEXOS

Amostra	Banco de Dados - Tereza											Relações entre Bases e T (%):									
	pH	Ca	Mg	Al	H+Al	K	K	P Meh-1	S	MO	B	SB	T	V	M	Ca/Mg	Ca/T	Mg/T	KT	H+Al/T	
	cmolc dm ⁻³					mg dm ⁻³					%										
1	4,80	2,11	0,74	0,20	4,04	0,29	112,00	58,90	31,40	1,40	0,22	3,14	7,18	44,00	6,00	2,90	29,39	10,31	4,04	56,27	
2	4,70	1,86	0,60	0,30	4,08	0,27	107,00	7,80	42,90	1,40		2,73	6,81	40,00	10,00	3,10	27,31	8,81	3,96	59,91	
3	4,90	2,74	0,78	0,20	4,04	0,40	156,00	10,40	31,80	1,40	0,23	3,92	7,96	49,00	5,00	3,50	34,42	9,80	5,03	50,75	
4	4,60	1,82	0,61	0,10	5,37	0,25	98,00	14,00	35,60	1,40		2,68	8,05	33,00	4,00	3,00	22,61	7,58	3,11	66,71	
5	4,90	2,82	0,74	0,20	4,04	0,23	88,00	13,90	43,10	1,40		3,79	7,83	48,00	5,00	3,80	36,02	9,45	2,94	51,80	
6	4,50	1,65	0,58	0,20	5,37	0,18	71,00	4,10	57,40	1,40	0,21	2,41	7,78	31,00	8,00	2,80	21,21	7,46	2,31	69,02	
7	4,70	2,54	0,73	0,20	4,04	0,20	77,00	21,80	38,60	1,40		3,47	7,51	46,00	5,00	3,50	33,82	9,72	2,66	53,79	
8	4,80	1,88	0,94	0,20	2,77	0,29	113,00	4,30	19,70	1,40	0,22	2,91	5,68	51,00	6,00	1,80	29,58	16,55	5,11	48,77	
9	4,80	1,59	0,92	0,30	4,04	0,31	121,00	1,40	26,20	1,40		2,84	6,86	41,00	10,00	1,70	23,18	13,41	4,52	58,89	
10	5,00	1,65	0,93	0,00	3,38	0,26	102,00	1,20	20,50	1,40		2,51	6,22	46,00	0,00	1,80	26,53	14,95	4,18	54,34	
11	4,40	1,61	0,59	0,50	4,78	0,31	121,00	12,80	62,10	1,40		2,00	7,15	28,00	13,00	2,90	18,74	6,43	2,80	72,03	
12	4,60	1,34	0,46	0,30	5,15	0,20	78,00	5,50	68,60	1,40		2,45	7,18	34,00	8,00	3,20	23,54	7,24	3,34	65,88	
13	4,60	1,69	0,52	0,20	4,73	0,24	94,00	6,70	43,90	1,40		2,45	3,13	6,69	47,00	6,00	1,90	28,70	15,10	2,99	53,21
14	4,80	1,92	1,01	0,20	3,56	0,20	78,00	1,60	62,90	1,40	0,21	4,14	7,52	55,00	0,00	3,00	37,50	12,50	5,05	44,95	
15	5,20	2,82	0,94	0,00	3,38	0,38	149,00	8,00	39,20	1,40	0,19	3,67	7,84	47,00	0,00	3,40	33,42	9,69	3,70	53,19	
16	5,00	2,62	0,76	0,00	4,17	0,29	115,00	6,60	68,00	1,40		2,43	8,33	29,00	11,00	2,40	18,37	7,56	3,24	70,83	
17	4,40	1,53	0,63	0,30	5,90	0,27	105,00	2,80	19,10	1,40		4,12	6,95	59,00	0,00	3,70	39,86	10,65	8,78	40,72	
18	5,30	2,77	0,74	0,00	2,83	0,61	237,00	3,40	60,40	1,40		1,91	8,06	24,00	9,00	4,60	17,00	3,72	2,98	76,30	
19	4,40	1,37	0,30	0,20	6,15	0,24	92,00	16,70	66,70	1,40		1,80	9,00	20,00	10,00	3,00	13,22	4,44	2,33	80,00	
20	4,40	1,19	0,40	0,20	7,20	0,21	84,00	3,60	26,10	1,40	0,26	3,36	7,71	44,00	8,00	2,50	25,42	10,12	8,04	56,42	
21	4,80	1,96	0,78	0,30	4,35	0,62	242,00	10,80	40,10	1,40		2,52	8,74	29,00	7,00	3,30	18,79	5,95	3,09	71,17	
22	4,50	1,73	0,52	0,20	6,22	0,27	106,00	32,50	44,40	1,40		2,48	7,73	32,00	11,00	3,50	22,77	6,60	2,72	67,92	
23	4,50	1,76	0,51	0,30	5,25	0,21	83,00	13,60	44,40	1,40		2,26	8,48	27,00	8,00	3,00	18,28	6,01	2,36	73,35	
24	4,50	1,55	0,51	0,20	6,22	0,20	78,00	8,60	62,20	1,40	0,27	2,42	7,90	31,00	8,00	2,70	20,89	7,85	1,90	69,37	
25	4,50	1,65	0,62	0,20	5,48	0,15	59,00	2,80	19,20	1,40		3,25	7,33	44,00	0,00	2,10	27,56	13,23	3,55	55,66	
26	5,00	2,02	0,97	0,00	4,08	0,46	102,00	1,80	19,70	1,40		3,90	8,48	46,00	5,00	1,70	25,71	15,57	4,72	54,01	
27	4,70	2,18	1,32	0,20	4,58	0,20	156,00	6,10	20,20	1,40		5,23	8,87	59,00	0,00	2,10	34,05	16,01	8,91	41,04	
28	5,20	3,02	1,42	0,00	3,64	0,79	310,00	1,00	23,30	1,40	0,28	3,28	6,81	48,00	0,00	2,10	30,40	14,39	3,38	51,84	
29	5,10	2,07	0,98	0,00	3,53	0,23	89,00	2,50	27,50	1,40		2,52	6,65	38,00	7,00	2,40	25,41	10,38	2,11	62,11	
30	4,80	1,69	0,69	0,20	4,13	0,14	55,00	15,50	30,30	1,40		1,71	7,49	23,00	6,00	3,20	15,62	4,81	4,74	83,58	
31	4,80	1,17	0,36	0,10	5,78	0,18	69,00	1,50	9,40	1,40		0,90	5,48	16,00	25,00	1,80	8,39	4,74	3,28	83,58	
32	4,70	0,46	0,26	0,30	4,58	0,18	69,00	1,30	13,20	1,40		0,75	6,53	11,00	21,00	2,10	6,13	2,91	2,45	88,51	
33	4,70	0,40	0,19	0,20	5,78	0,16	62,00	1,10	8,60	1,40	0,26	0,69	6,59	10,00	30,00	1,20	4,40	3,79	2,28	89,53	
34	4,90	0,29	0,25	0,30	5,90	0,15	60,00														

Amostra	Banco de Dados - Porta																			
	pH	Ca	Mg	Al	H+Al	K	K	P Meh-1	S	MO	B	SB	T	V	M	Relações entre Bases e T (%):				
																Ca/Mg	Ca/T	Mg/T	K/T	H+Al/T
1	4,50	3,47	0,64	0,10	3,42	0,15	57,00	15,40	54,40	2,50	0,18	4,26	7,68	55,00	2,00	5,40	45,18	8,33	1,95	44,53
2	4,50	1,53	0,50	0,50	3,79	0,18	70,00	10,00	31,30	2,50	n.s.	2,21	6,00	37,00	18,00	3,10	25,50	8,33	3,00	63,17
3	4,90	1,84	0,52	0,30	3,64	0,18	70,00	50,80	36,50	2,50	n.s.	2,54	6,18	41,00	11,00	3,50	29,77	8,41	2,91	58,90
4	4,60	1,61	0,53	0,30	3,79	0,15	60,00	21,00	35,10	2,50	n.s.	2,29	6,08	38,00	12,00	3,00	26,48	8,72	2,47	62,34
5	4,80	2,26	0,77	0,20	3,17	0,15	60,00	7,40	42,40	2,50	n.s.	3,18	6,35	50,00	6,00	2,90	35,59	12,13	2,36	49,92
6	4,60	2,40	0,83	0,20	2,98	0,14	56,00	6,70	21,40	2,50	0,14	3,37	6,35	53,00	6,00	2,90	37,80	13,07	2,20	46,93
7	4,90	2,47	0,80	0,30	3,28	0,17	66,00	6,70	31,10	2,50	n.s.	3,44	6,72	51,00	8,00	3,10	36,76	11,90	2,53	48,81
8	4,70	2,80	0,99	0,30	4,08	0,16	61,00	67,90	27,20	2,50	n.s.	3,95	8,03	49,00	7,00	2,80	34,87	12,33	1,99	50,81
9	4,60	2,03	0,72	0,40	3,56	0,15	58,00	19,20	34,80	2,50	0,15	2,90	6,46	45,00	12,00	2,80	31,42	11,15	2,32	55,11
10	4,40	2,29	0,83	0,20	4,08	0,16	62,00	35,10	30,80	2,50	n.s.	3,28	7,36	45,00	6,00	2,80	31,11	11,28	2,17	55,43
11	4,60	2,71	0,85	0,30	3,04	0,17	66,00	23,20	35,70	2,50	0,12	3,73	6,77	55,00	7,00	3,20	40,03	12,56	2,51	44,90
12	4,20	1,58	0,40	0,20	3,24	0,12	48,00	15,60	43,80	2,50	n.s.	2,10	5,34	39,00	9,00	4,00	29,59	7,49	2,25	60,67
13	4,60	1,97	0,70	0,20	2,86	0,19	73,00	5,70	23,40	2,50	n.s.	2,86	5,72	50,00	7,00	2,80	34,44	12,24	3,32	50,00
14	4,20	2,02	0,71	0,20	3,24	0,36	140,00	9,80	29,10	2,50	n.s.	3,09	6,33	49,00	6,00	2,80	31,91	11,22	5,69	51,18
15	4,60	1,71	0,62	0,10	3,49	0,16	61,00	5,30	48,50	2,50	n.s.	2,49	5,98	42,00	4,00	2,80	28,60	10,37	2,68	58,36
1 (20-40CM)	4,50	1,03	0,29	0,20	4,21	0,19	76,00	8,40	71,20	2,50	n.s.	1,51	5,72	26,00	12,00	3,60	18,01	5,07	3,32	73,60
2 (20-40CM)	4,30	1,53	0,43	0,20	4,49	0,12	48,00	7,90	30,50	2,50	n.s.	2,08	6,57	32,00	9,00	3,60	23,29	6,54	1,83	68,34
Textura	Argila	Slite	Areia																	
%	25	10	65																	



INSTITUTO FEDERAL

Goiano

Campus
Urutaí

