

Líquido de castanha de caju: controle de patógenos na cultura de soja

Cashew nut liquid: control of pathogens in soybean culture

DOI:10.34117/bjdv8n12-159

Recebimento dos originais: 10/11/2022

Aceitação para publicação: 14/12/2022

Eliane Rosa da Silva Dilkin

Doutora em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional

Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul – Campus Campo Grande

Endereço: Rua Taquri, 831, CEP: 79100-510, Santo Antônio, Campo Grande - MS, Brasil

E-mail: eliane.dilkin@ifms.edu.br

Rosemary Matias

Doutora em Química

Instituição: Universidade Anhanguera (UNIDERP) - MS

Endereço: Rua Alexandre Herculano, 1400, CEP: 79037-280, Campo Grande - MS, Brasil

E-mail: rosematiasc@gmail.com

Ademir Kleber Morbeck de Oliveira

Doutor em Ciências

Instituição: Universidade Anhanguera (UNIDERP) - MS

Endereço: Rua Alexandre Herculano, 1400, CEP: 79037-280, Campo Grande - MS, Brasil

E-mail: akmorbeckoliveira@gmail.com

Bianca Obes Corrêa

Doutora em Fitossanidade

Instituição: Universidade Anhanguera (UNIDERP) - MS

Endereço: Rua Alexandre Herculano, 1400, CEP: 79037-280, Campo Grande - MS, Brasil

E-mail: bianca.obescorreia@yahoo.com.br

RESUMO

Com o advento da tecnologia no campo muitas das dificuldades existentes na agricultura foram supridas ao longo dos anos, inúmeras pragas e doenças agrícolas deixaram de ser epidêmicas com o auxílio de produtos fitossanitários sintéticos e seu manejo integrado. Devido a isto, objetivou-se avaliar as atividades antifúngicas do líquido da castanha de caju (LCC) sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* e em folhas destacadas in vitro sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*. O LCC obtido da empresa Resibras Company, São Paulo/SP foi submetido a análise física e química e as soluções hidroalcoólica nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$, foram incorporadas, separadamente, em meio batata-dextrose-ágar (BDA), e vertidas em placas de Petri, seguido do disco de micélio do fungo, onde o diâmetro das

colônias foi medido diariamente. Como controle utilizou-se apenas o ágar. O LCC foi submetido ao ensaio no combate ao mofo branco em folhas destacadas de soja inoculado com o fungo *S. sclerotiorum*. O trabalho se desenvolveu a partir da pulverização do LCC nas mesmas concentrações já citadas. Inoculado o fungo *S. sclerotiorum* foi avaliado o grau de severidade da doença em 24 e 72 horas. O LCC inibiu 29% do crescimento micelial de *F. solani*; nas concentrações $1600 \mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$. Para *S. sclerotiorum*, a melhor concentração foi de $2000 \mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$, com 100% de redução de crescimento. Atribui-se pouco potencial antifúngico do LCC contra o fungo em folhas destacadas de soja, com maiores de lesão.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*, Ácido anacárdico, Ação fungicida, *Sclerotium sclerotiorum*, *Glycine max*.

ABSTRACT

With the advent of technology in the field many of the existing difficulties in agriculture have been overcome over the years, numerous pests and agricultural diseases ceased to be epidemic with the help of synthetic pesticides and their integrated management. Due to this, the objective was to evaluate the antifungal activities of cashew nut liquid (CNSL) on the mycelial growth of *Fusarium solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* and on detached leaves in vitro on the mycelial growth of *S. sclerotiorum*. The LCC obtained from Resibras Company, São Paulo/SP, was submitted to physical and chemical analysis and the hydroalcoholic solutions at concentrations of 800, 1200, 1600, 2000 and $2400 \mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$, were separately incorporated into potato-dextrose-agar (BDA) medium and poured into Petri plates, followed by the mycelium disk of the fungus, where the diameter of the colonies was measured daily. Only agar was used as a control. The LCC was tested to combat white mold on detached soybean leaves inoculated with the fungus *S. sclerotiorum*. The work was developed from the spraying of the CCL in the same concentrations already mentioned. When the fungus *S. sclerotiorum* was inoculated, the severity of the disease was evaluated in 24 and 72 hours. The CCL inhibited 29% of the mycelial growth of *F. solani* at concentrations of $1600 \mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$. For *S. sclerotiorum*, the best concentration was $2000 \mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$, with 100% growth reduction. Little antifungal potential of CCL is attributed against the fungus on detached soybean leaves with larger lesion size.

Keywords: *Anacardium occidentale*, Anacardic acid, Fungicidal action, *Sclerotium sclerotiorum*, *Glycine max*.

1 INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L. (Anacardiaceae), nativa do Brasil, conhecida popularmente como cajueiro, tem uma representação significativa na economia de determinadas regiões do nordeste brasileiro (MAZZETTO; LAMONACO, MELE, 2009). Da castanha do qual é extraído um líquido viscoso denominado de líquido da castanha de caju, LCC (ADORNO et al., 2013; SERRANO; PESSOA, 2016).

O LCC representa aproximadamente 25% do peso da castanha, é considerado um subproduto do agronegócio da cultura do cajueiro, de baixíssimo valor agregado. O

líquido é rico em lipídeos fenólicos, em que o componente principal é ácido anacárdico (KUBO et al., 2006). Contudo, extrações em condições de temperaturas iguais e superiores a 100 °C favorecem a descarboxilação do ácido anacárdico e o aumento dos teores de cardol e formação de cardanol (MATOS; SILVA; VIEIRA, 2008; MAIA et al., 2015; GARCIA et al., 2018).

Independentemente do método de extração, o LCC possui inúmeras atividades biológicas (GUISSONI et al., 2013), com destaque o potencial larvicida contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) (PORTO et al., 2013; DOURADO et al., 2015). Além disso, foi atribuído ao LCC atividade antimicrobiana contra patógenos humanos como *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Candida utilis* (LIMA; PASTORE; LIMA, 2000).

Segundo Silveira et al. (2019) o LCC tem apresentado potencial repelente e inseticida e ao mesmo tempo, diminuindo a atratividade e aumentando a repelência do caruncho-do-bambu (*Bambusa vulgaris*). Esse óleo também apresentou potencial fungicida nos ensaios de inibição do crescimento micelial *in vitro* na concentração de 320 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *Colletotrichum gloesporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*. Já em estudos *in vivo* em frutos de mamões, a maior inibição do óleo ocorreu para o fungo *C. gloesporioides* no tratamento protetor e para o fungo *L. theobromae* no tratamento curativo foi mais eficaz (GARCIA et al., 2018).

Dentre os patógenos de difícil controle que sobrevivem em restos culturais, solo, tubérculos e sementes infectadas estão o *Fusarium solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Esses fungos podem permanecer dormentes no solo por longos períodos, em condições adversas, desenvolvendo-se quando a cultura já está instalada, ou até que as condições ambientais favoráveis de temperatura e umidade estejam presentes para sua germinação (SCHWARTZ; HARVESON; STEADMAN, 2012; JULIATTI et al., 2013; GARCIA et al., 2015).

Além disso, o *F. solani* e *S. sclerotiorum* apresentam peculiaridades específicas, são agentes causais de diversas doenças, como a fusariose e mofo branco respectivamente, que atacam diferentes espécies cultivadas. Pode infectar qualquer parte da planta de soja, mas inicia com maior frequência nas folhas, hastes e vagens. As medidas de controle de doenças provocadas por estes fitopatógenos contemplam o uso de variedades resistentes, fungicidas químicos sintéticos e microrganismos antagonista, os quais podem ser empregados separadamente e/ou em conjunto, no manejo integrado (SILVA et al., 2008). Esse manejo integrado tem a finalidade de minimizar a resistência

desses patógenos, principalmente aos defensivos químicos sintéticos que causam uma série de danos ao ambiente e ao homem (CARNEIRO et al., 2007; MAQBOOL et al., 2010; GARCIA et al., 2012).

Conhecendo os problemas que o *F. solani* e *S. sclerotiorum* trazem para a agricultura brasileira e do potencial fungicida do LCC no controle de fitopatógenos, objetivou-se avaliar as atividades antifúngicas do LCC sobre o *F. solani* e *S. sclerotiorum* e em folhas destacadas de soja *in vitro* sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O líquido da castanha de caju (LCC), utilizado experimento, extraído do endocarpo do *A. occidentale* L., foi fornecido pela empresa Resibras, São Paulo-SP, Brasil.

2.1 ANÁLISE FÍSICA E QUÍMICA

Para análise física e química do LCC partiu-se de uma solução estoque hidroalcolica (95:5 mL), a 200 mg mL⁻¹. Desta solução foram obtidas soluções nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg 100 mL⁻¹ utilizadas nos ensaios biológicos.

A solução estoque de LCC (200 mg mL⁻¹) foi submetida à caracterização química, por cromatografia em camada fina (TLC), sobre folhas de alumínio revestidas de sílica gel (60F₂₅₄, 0.20 mm, Merck) utilizando sistemas solventes (Hex: CHCl₃: EtOH, 5.0: 5.0: 0.3). Os compostos foram detectados pela exposição à luz UV (265 e 365 nm), Iodo, FeCl₃/k₃Fe (CN)₆ e vanilina sulfúrica e o R_f calculado e como padrão o Ácido Anacárdico (ácido 2-hidroxi-6-pentadecilbenzóico-8'Z, 11Z, 14'Z-trenio) (pureza ≥ 85%, Sigma/Aldrich).

A solução hidroalcolica do LCC (200 mg mL⁻¹) também foi analisado por espectros de UV-visível. Para esta análise partiu-se de uma alíquota de 10 mg mL⁻¹ da solução hidroalcolica de LCC, com seus espectros de absorbância determinados em comprimentos de onda de 200 a 700 nm (VIEIRA et al., 2006).

O ácido anacárdico foi quantificado no LCC por espectros de UV-visível com procedimento descrito por Vieira et al. (2006). Paralelamente, foi determinado os teores de compostos fenólicos totais das soluções hidroalcolicas do LCC (800; 1200; 1600; 2000 e 2400 µg 100 mL⁻¹), utilizando como padrão o ácido gálico (10 a 350 µg mL⁻¹) e expressa como miligramas de EAG (equivalentes de ácido gálico) por grama de extrato

(SOUSA et al., 2007). A equação da curva de calibração do ácido gálico ($Y = 789.567 x + 4.9858$, $R = 0.9887$), medidos a 750 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

O LCC foi submetido à análise de pH (pH DM-20, Digimed) e condutividade elétrica (Digimed, EC DM₃).

2.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

Os fungos utilizados neste estudo foram *F. solani* e *S. sclerotiorum*, cedidos pelo Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, na Universidade Anhanguera-UNIDERP.

A partir da solução hidroalcolica do LCC (200 mg mL⁻¹), concentrações de 0.4: 0.6: 0.8: 1.0 e 1.2 mL foram separadas em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Agar), até atingir um volume de 100mL, onde as concentrações obtidas foram de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg 100 mL⁻¹. Duas soluções foram preparadas como controle, uma contendo teor de etanol (99.5%) adicionada ao meio BDA (2400 µg 100 mL⁻¹), denominada solução hidroalcolica e outra somente com meio BDA (sem extrato de *A. occidentale*), denominado solução controle.

Quatro repetições de cada concentração foram vertidas em placas de Petri de 90 mm num volume correspondente a 10 mL por placa. Após a solidificação, foi atingido o pico no centro de cada placa, um disco micélio com 0.5 mm de diâmetro previamente isolado uma semana antes do procedimento. Posteriormente, as placas foram cobertas e seladas com filme plástico e mantidas em câmara de crescimento a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada por meio de medidas diárias do diâmetro das colônias, obtidas pela média de duas medidas diametralmente opostas, realizado até o grupo controle atingir a borda da placa de Petri.

Com base nos dados obtidos, o percentual de inibição do crescimento (PIC) foi calculado usando a Equação 1:

$$PIC = \frac{[(\text{diâmetro testemunha} - \text{diâmetro do tratamento})]}{\text{diâmetro testemunha}} \times 100$$

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, utilizando o *software* SISVAR v.4.0 (FERREIRA, 2011).

2.3 ENSAIO COM FOLHAS DESTACADAS DE SOJA

Sementes da cultivar “BMX Potência” foram semeadas em vasos com capacidade para cinco litros, previamente preenchidos com solo (Neossolo Quartzarênico Órtico). O solo foi adubado com fontes de fósforo e potássio, conforme recomendações de Ribeiro, Guimarães e Alvarez (1999).

O tipo de solo é classificado de Neossolo Quartzarênico Órtico (profundidade de 0 – 20 cm), e apresentou os seguintes atributos: pH em H₂O (1:2.5) = 6.3; pH em CaCl₂ = 5.5; P (Mehlich⁻¹) = 14.5 mg dm⁻³; K⁺ = 43 mg dm⁻³; Ca⁺² = 2.2 cmol dm⁻³; Mg⁺² = 1.5 cmol dm⁻³; H⁺ + Al³⁺ = 2.8 cmol dm⁻³ (método KCl - 1N); matéria orgânica = 19.6 g dm⁻³ (método colorimétrico); textura de argila = 120 g k⁻¹; silte = 40 g k⁻¹; areia = 840 g k⁻¹ (método da pipeta) (CLAESSAN, 1997).

Foram semeadas cinco sementes por vaso com profundidade de 3 cm e mantidas em casa de vegetação. Para este ensaio foram realizados cinco tratamentos da solução hidroalcolica do LCC (200 mg mL⁻¹), em cinco concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg 100 mL⁻¹, como testemunha foi pulverizada água destilada estéril.

Aos 28 dias foram coletados trifólios compostos por folhas maduras e expandidas de plantas em estágio V3 (SCHWARTZ, 2004). No laboratório, inicialmente foram preparadas seis bandejas plásticas (28 x 33 cm) contendo três folhas de papel filtro umedecidas com 55 mL de água destilada esterilizada. Sobre estas foram acondicionados cinco trifólios de soja, os quais foram, a seguir, pulverizados com atomizador manual, separadamente, com as diferentes concentrações da solução hidroalcolica do LCC (200 mg mL⁻¹), nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg 100 mL⁻¹. Como testemunha foi pulverizada água destilada estéril.

Em seguida, foram adicionados discos de micélio de *S. sclerotiorum* com 5mm de diâmetro (cinco dias de crescimento micelial), no folíolo central. Na sequência, as bandejas foram cobertas com papel filme e armazenadas em câmara de germinação à temperatura de 25 °C com fotoperíodo de 12 horas. Após 24 horas, foram realizadas avaliações do diâmetro da lesão com auxílio de paquímetro digital.

As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 horas após a inoculação do fungo, medindo-se o diâmetro das lesões presentes nos folíolos (horizontal e vertical) com o uso do paquímetro digital. Além do diâmetro das lesões, também foram medidas a largura dos folíolos para o cálculo da área lesionada pelo patógeno.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizados, com seis repetições por tratamento e após a aplicação do LCC. Os valores obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.4 ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE SOJA

As folhas de soja também foram separadas e utilizadas para obter o extrato etanólico a 20% (20 g da planta e 100 mL de etanol 99.5%), extraídos exaustivamente até esgotamento dos constituintes e realizado de acordo com procedimentos descritos em Matos (2009) e Simões et al. (2017). As análises ocorreram por meio de ensaios colorimétricos e/ou precipitação e foram realizadas em triplicatas. Os resultados, comparados com o grupo controle (extrato etanólico) e também entre si, para visualizar alteração de cor ou precipitação. As alterações na cor foram classificadas como, significativamente positiva (+++ = 100%), fortemente positiva (±±± = 75%), positiva (++ = 50%), moderadamente positiva (±± = 25%), parcialmente positiva (+ = 15%), fracamente positiva (± = 5%) e, negativa (-), realizados em tubos graduados e considerados como, parcial (< 0.2 cm), baixa (0.2-0.5 cm), moderada (0.5-0.7 cm) e alta intensidade (0.7-1.0 cm), segundo Fontoura et al. (2015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação dos compostos fenólicos (Tabela 1) ficou evidenciado que o LCC possui majoritariamente os compostos fenólicos, sendo 82.5% de ácido anacárdico.

A análise por cromatografia de camada delgada (CCD) indicou que no LCC além do ácido anacárdico possui em sua composição cardol e cardanol (Tabela 2). Esses mesmos achados foram descritos por Costa et al. (2000), ao investigarem o ácido anacárdico proveniente do fruto do caju, com extração da castanha à quente, sofre descarboxilação, perdendo a carboxila de sua estrutura gerando novas substâncias carnadol, cardol, material de polímeros e 2-metilcardol, também descritas por Correia e Silva (2005) e Rodrigues (2006).

Tabela 1. Quantificação dos compostos fenólicos, condutividade elétrica e potencial hidrogeniônico (pH) da solução hidroalcolica do líquido da casca da castanha de caju (200 mg mL⁻¹) nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg 100 mL⁻¹

LCC (µg 100 mL ⁻¹)	Compostos Fenólicos (µg mL ⁻¹)	CE (µS cm ⁻¹)	pH
800	19.94 ± 0.002c	2.07 ± 0.05e	5.7 ± 0.04a
1200	21.56 ± 0.004b	2.46 ± 0.20d	5.9 ± 0.01a
1600	23.17 ± 0.004b	3.18 ± 0.05c	5.8 ± 0.02a
2000	23.17 ± 0.004b	3.70 ± 0.10b	5.6 ± 0.01a
2400	44.56 ± 0.004a	5.48 ± 0.15a	5.7 ± 0.01a
DMS 5%	0.001	0.3606	0.0571

*Médias seguidas de mesma letra não se diferenciam estatisticamente pelo teste de Tukey, 5% de probabilidade.

Para a realização do teste de condutividade elétrica foram utilizados os cinco tratamentos (cinco micro diluições), as quais aumentaram com incremento nas concentrações. Esse aumento que as afetaram negativamente o rearranjo das membranas celulares, favorecendo a lixiviação de açúcares, lipídeos, proteínas e outros componentes do LCC, concordando com Comiotto (2011).

Os resultados do pH apresentaram-se na faixa de 5.6 a 5.9. Mesmo com pequena variação do pH, não houve efeito de controle, onde em soluções muito diluídas, como nas cinco micro diluições utilizadas nesse estudo tendem a perder o efeito tampão, favorecendo a proliferação do fungo *S. sclerotium*, que tem a habilidade de se desenvolver em ampla faixa de pH (LOBO JÚNIOR, 2005; SKOOG et al., 2015).

Tabela 2. Resultados da determinação dos lipídios fenólicos no líquido da castanha de caju (LCC) técnico

Amostra/Padrão	FeCl ₃ /k ₃ Fe (CN) ₆		Vanilina		Lipídios Fenólicos
	Rf	Cor das Bandas	Rf	Cor das Bandas	
LCC Técnico	0.18	Marrom	0.15	Nr	ácido anacárdico
	0.34	azul petróleo	0.29	vermelho	Cardol
	0.52	Lilás	0.34	vermelho	Cardol
	0.57	Marrom	0.57	vermelho	Cardol
	0.80	Lilás	Nr	Nr	Cardanol
Ácido Anacárdico (Padrão)	0.19	Marrom	0.71	lilás	ácido anacárdico
	0.34	azul petróleo	Nr	Nr	Cardol

Rf = Fator de retenção. Nr = não reagente. Cloreto férrico/ferrocianeto de potássio: reagente universal para compostos fenólicos, mancha marrom, azul petróleo, lilás ou marrom. Vanilina: compostos fenólicos, mancha vermelha.

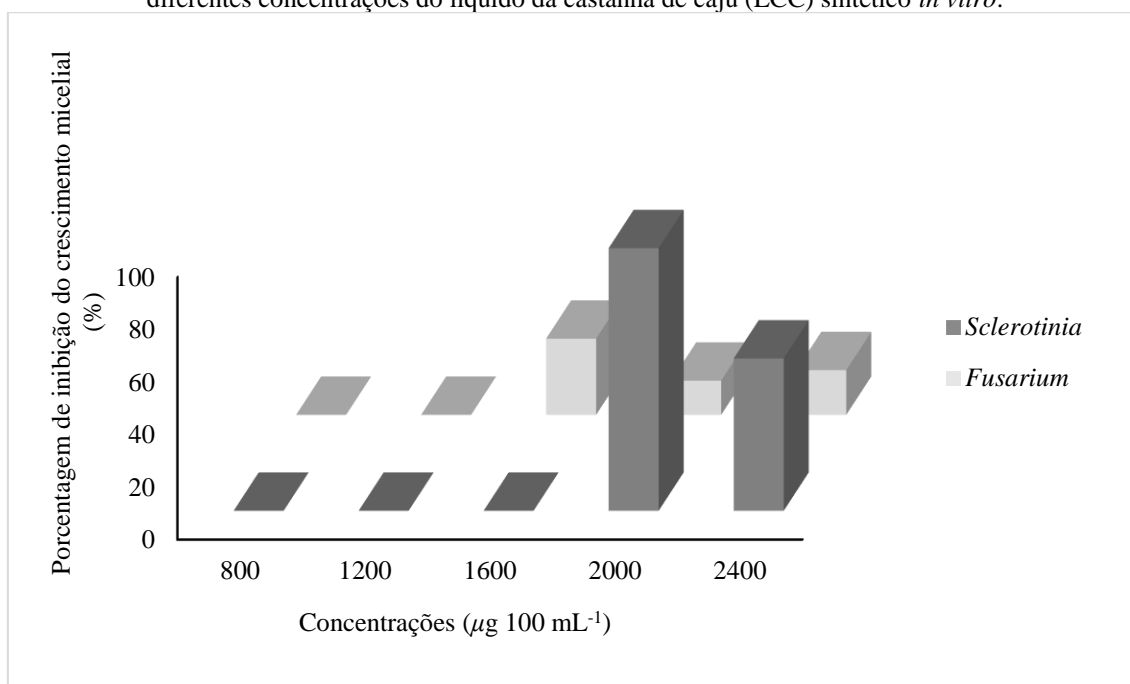
Em relação à atividade antifúngica, observou-se interação entre as diferentes concentrações de extrato etanólico de LCC e fitopatógenos (*F. solani* e *S. sclerotiorum*). Todas as concentrações proporcionaram níveis de inibição do crescimento micelial dos

fungos, com o PIC variando entre 0 e 100%. As concentrações do extrato com 1600, 2000 e 2400 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ reduziram o crescimento de *F. solani* de 29, 13 e 17%, respectivamente, quando comparado com o grupo controle (Figura 1).

As concentrações do extrato com 2400 e 2000 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ mostraram melhores resultados de redução no crescimento de *S. sclerotiorum* com efeito inibitório de 58 e 100%, respectivamente, comparado com o grupo controle. Destas duas, nos quatro primeiros dias não houve crescimento micelial na concentração de 2000 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ proporcionando controle superior (Figura 2).

A análise de regressão comprova, na figura 2, que quanto maior é a concentração do extrato, maior é o controle do crescimento micelial para *S. sclerotiorum*, contudo o *F. solani*, há controle na concentração de 1600 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$.

Figura 1. Inibição do crescimento micelial (%) do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani* sob diferentes concentrações do líquido da castanha de caju (LCC) sintético *in vitro*.



Destes dois fungos (*F. solani* e *S. sclerotiorum*), as concentrações proporcionaram melhor redução do crescimento micelial para o *S. sclerotiorum*. Nas concentrações 2400 e 2000 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ observou-se redução e com efeito inibitório de 58 e 100%, respectivamente, comparado com o grupo controle, considerando a média dos dois períodos de avaliação. Destas duas, nos quatro primeiros dias não houve crescimento micelial na concentração de 2000 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$, o que interferiu significativamente na

porcentagem de controle ser superior, esta afirmação é corroborada por análise de regressão (Figura 3).

Figura 2. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* usando diferentes concentrações de extrato etanólico do líquido da castanha de caju *in vitro*.

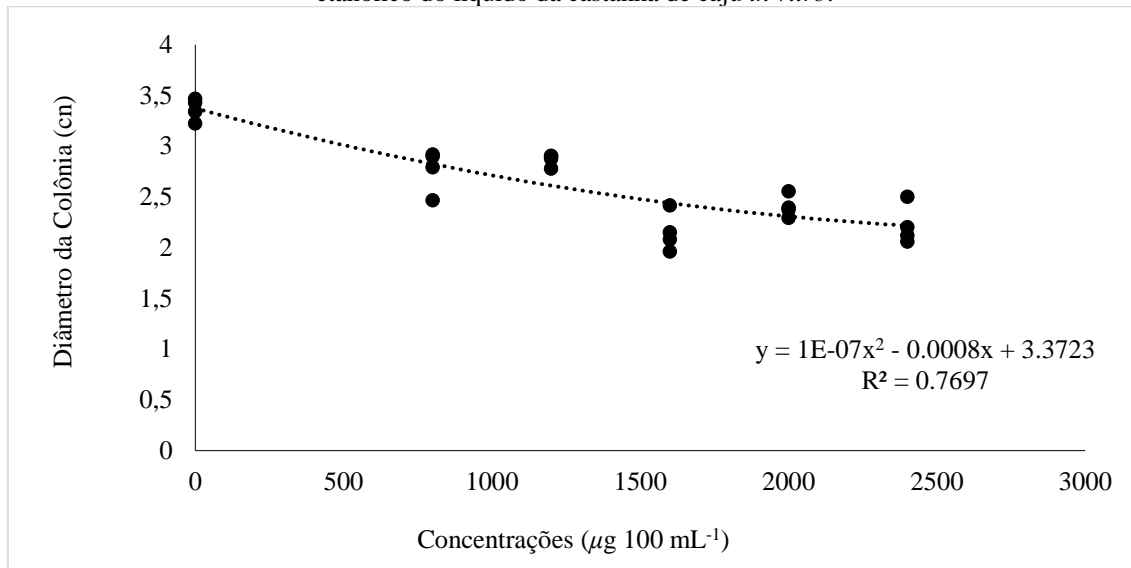
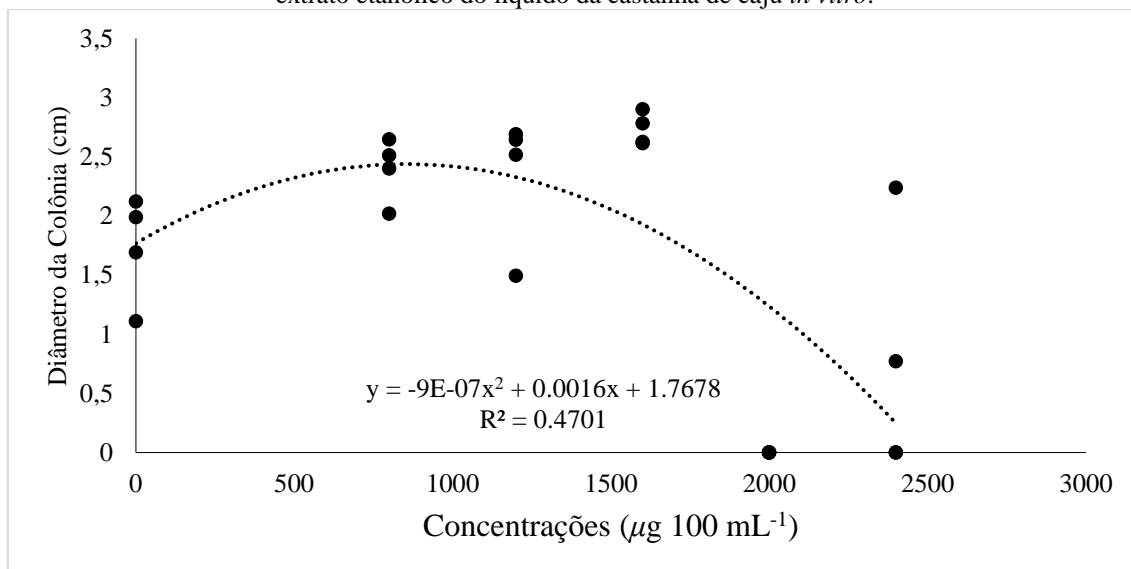


Figura 3. Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* usando diferentes concentrações de extrato etanólico do líquido da castanha de caju *in vitro*.

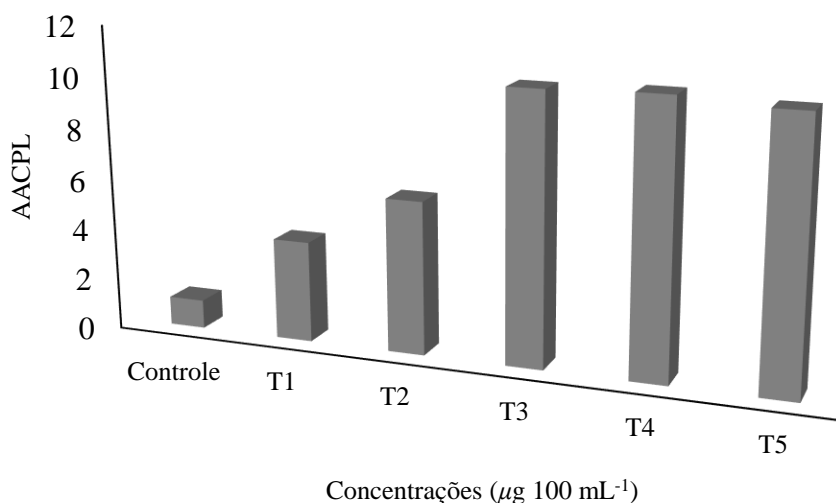


No tocante dos tratamentos do LCC aplicados em folhas destacadas, todos apresentaram fitotoxicidade, ocasionando cerca de 90% de injúrias nas folhas. Os sintomas mais evidentes de fitotoxicidade foi a clorose generalizada, que progrediu para necrose.

Os ensaios das porcentagens médias de severidade da doença nas folhas destacadas do cultivar “BMX Potência” inoculadas descreveram com o avanço do estágio V4 de *S. sclerotiorum* em plantas de soja.

Houve uma diferença significativa das lesões da doença nas maiores concentrações de 1600, e 2000 e 2400 $\mu\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ (Figura 4), sendo que as aplicações dos extratos LCC sobre o fungo inoculado sobre a planta resultou em rápida produção de necrose dos tecidos das folhas de soja em 48 horas. Essas observações levaram ao fenômeno de que o fungo possa produzir fitotoxinas nas folhas (VAREJÃO et al., 2013), sendo induzido pelos metabólitos secundários presentes nas folhas, apresentando maiores valores de AACPL com o aumento das concentrações (Figura 4).

Figura 4. Área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* inoculado em folhas destacadas de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) 48 horas após pulverização com diferentes concentrações do líquido da castanha de caju e comparados a testemunha pulverizada com água.



Fica evidente que houve atividade antifúngica da solução do LCC sobre o fungo, o que pode ser decorrente dos lipídios fenólicos que constituem o LCC, que dependendo do método de extração varia em proporção. No LCC, que é resultante do processo para a obtenção da amêndoa apresenta maior quantidade de cardanol (MAZZETTO; LAMONACO; MELE, 2009), isto ocorre porque em altas temperaturas o ácido anacárdico sofre descarboxilação em cardanol.

Em relação aos mecanismos de ação dos constituintes presentes no LCC (ácido anacárdico, cardol e cardanol), ainda não estão elucidados, pode-se apontar a atividade antifúngica observada, desses compostos sobre *S. sclerotiorum* que está relacionada com

a estrutura química dos lipídios fenólicos. Esses por apresentarem uma cadeia lateral longa e hidrofóbica possuem facilidade de penetrar e atuarem na permeabilidade da membrana celular (membrana das lipoproteínas). Já dentro da célula os grupos polares (Grupo de ácido fenólico e ácido carboxílico) em meio aquoso se ionizam e possuem atração com os resíduos de aminoácidos das proteínas e capacidade de desativá-las.

Tabela 3. Resultados da análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas de soja coletadas em setembro (set) de 2017, conforme recomendações de Ribeiro, Guimarães e Alvarez (1999)

Classes de metabólitos secundários	Resultado	
Compostos Fenólicos	+++/-	70%
Taninos	++	50%
Flavonoides	+	30%
Cumarinas	+	30%
Esteroides	+	30%
Açúcares Redutores	+++	100%
Heterosídeos Cardiotônicos	+++	100%

(+) menor intensidade; (++) intensidade média; (+++) maior intensidade.

Com isto, é possível inferir que o LCC por sua atividade antifúngica é um potencial produto para formulações, sendo possível sua utilização para a produção de fungicidas alternativos, ou até para a produção de triazóis como evidenciado por Freire et al. (2011).

Os resultados obtidos, em relação aos metabólitos secundários, indicaram uma forte presença de compostos com ação comprovada, como os compostos fenólicos na maioria das respostas apresentadas nas folhas de soja, indicando defesa induzida por interação planta-fungo (elicitors bióticos), agente que induz a planta a síntese de fitoalexinas (INGHAM et al., 1981; BONALDO et al., 2004; MAZARO et al., 2008).

Dos metabólitos secundários presentes no extrato etanólico das folhas de soja, alguns têm papel importante nos mecanismos que ativa a defesa das plantas, como esteroides, flavonoides, compostos fenólicos e taninos. Destes os compostos fenólicos e taninos são apontados como responsáveis pela resistência dos tecidos vegetais jovens a patógenos vegetais (AGRIOS, 2005).

Além disso, são poderosos inibidores de várias enzimas hidrolíticas produzidas por esses patógenos durante sua penetração em células e tecidos vegetais. Os esteroides, por exemplo, são citados como substâncias responsáveis por causarem efeitos diretos e indiretos no processo de divisão celular, podendo até serem liberados em condições naturais, devido as suas características hidrossolúveis (RICE, 1984; FERREIRA; AQUILA, 2000; BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004).

Outros estudos relatam que dos metabólitos secundários pode ter sido ativado sua síntese de fitoalexinas a partir da presença de esteroides, flavonoides e taninos (SANNOMIYA et al., 2007), ácidos fenólicos (MOREIRA et al., 2000), lignana glicosilada (SILVA et al., 2012). Possivelmente as altas concentrações destes fitoconstituintes ou metabólitos que tendem a ativar a síntese de fitoalexinas, sendo efetivamente agentes antibacterianos e antifúngicos com potenciais de repelentes e inseticidas (VIEGAS-JÚNIOR, 2003); CAVALCANTE; MOREIRA; VASCONCELOS, 2006; ANDRADE et al., 2018), como uma forma de defesa ao fungo.

4 CONCLUSÃO

O líquido da castanha de caju (LCC) tem eficácia de ação fungicida e ou fungistática de 29% com o fungo *F. solani* e 100% com o fungo *S. sclerotiorum in vitro*. Enquanto o LCC pulverizado sobre o fungo *S. sclerotiorum* inoculado em folhas destacadas de soja apresentou diminuição do efeito antifúngico.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa, e pelo apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), do Centro de Pesquisas do Pantanal (CPP), da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDETEC), Instituto Nacional de Zonas Úmidas (INAU) e Universidade Anhanguera-Uniderp, pelo financiamento do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa (GIP) e Produtos Naturais (PN). Agradecimentos ao Instituto Federal de Mato Grosso do Sul (IFMS).

REFERÊNCIAS

- ADORNO, W. T. A. et al. Avaliação do Índice de Acidez do Óleo Bruto de Soja adicionado de LCC Natural, Visando Produção de Biodiesel. **Revista UNOPAR Científica: Ciência, Biologia e Saúde**, 15: 283-286, 2013.
- AGRIOS, G. N. How plants defend themselves against pathogens. In: AGRIOS, G. N. (Ed.). **Plant pathology**. 5. ed. Cambridge, MA: Academic Press, 2005. chap.6, p.93-114.
- ANDRADE, B. S. et al. Phytochemistry, antioxidant potential and antifungal of *Byrsonima crassifolia* on soil phytopathogen control. **Brazilian Journal of Biology**, 78: 140-146, 2018.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, 15: 63-72, 2004.
- BONALDO, S. M. et al. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, 29: 128-134, 2004.
- CARNEIRO, S. M. T. P. G. et al. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, 33: 34-39, 2007.
- CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. B.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41, 9-14, 2006.
- CLAESSAN, E. C. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Solos, 1997. 212 p.
- COMIOTTO, A. Potencial alelopático de extratos aquosos de aroeira sobre germinação e crescimento de plântulas de alface. **Scientia Agrária Paranaensis**, 10: 23-31, 2011
- CORREIA, A. M. D.; SILVA, T. R. S. *Drosera* (Droseraceae). **Flora Neotropica Monograph**, 96: 1-67, 2005.
- COSTA, T. S. A. et al. Caracterização, por cromatografia em camada delgada, dos compostos fenólicos presentes em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, 18: 129-137, 2000.
- DOURADO, D. M. et al. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) componente upon *Aedes aegypti* Lin. (Diptera: Culicidae) larvae'smidgut. **African Journal of Biotechnology**, 14: 829-834, 2015.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12: 175-204, 2000.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, 35: 1039-1042, 2011.

FREIRE, F. C. et al. **Desenvolvimento e Eficiência de um fungicida Triazol a partir do líquido da Casca da Castanha (LCC) do Cajueiro**. Fortaleza, CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 4 p. (Comunicado Técnico, 178).

FONTOURA, F. M. et al. Seasonal effects and antifungal activity from bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Amazônica**, 45: 283-292, 2015.

GARCIA, R. A. et al. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, 28: 48-57, 2012.

GARCIA, R. A. et al. Métodos de inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* para triagem de cultivares de soja resistentes ao mofo-branco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 50: 726-729, 2015.

GARCIA, N. Z. T. et al. Antifungal potential of cashew nut shell liquid in the control of plant pathogens. **Bioscience Journal**, 34: 95-103, 2018.

GUSSONI, A. C. P. et al. Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 15: 363-367, 2013.

INGHAM, J. L. et al. Inducibly formed isoflavonoids from leaves of soybean. **Phytochemistry** 20: 795-798, 1981.

JULIATTI, F. C. et al. Escala Diagramática para avaliação da severidade de mofo branco em soja. **Bioscience Journal**, 29: 676-680, 2013.

KUBO, I. et al. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry** 99: 555-562, 2006.

LIMA, C. A. A.; PASTORE, G. M.; LIMA, E. D. P. A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciência Tecnológica de Alimentos**, 20: 1-10, 2000.

LOBO JÚNIOR, M. Controle de podridões radiculares no feijoeiro comum com o fungicida microbiano Trichodermil. In: COBUCCI, T.; WRUCK, F. J. (Eds). **Resultados obtidos na área polo de feijão no período de 2002 a 2004**. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. p. 13-17. (Documentos, 174).

MAIA, F. J. N. et al. Evaluation of antioxidant action by electrochemical and accelerated oxidation experiments of phenolic compounds derived from cashew nut shell liquid. **Industrial Crops and Products**, 67: 281-286, 2015.

MAQBOOL, M. et al. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. **Crop Protection**, 29: 1136-1141, 2010.

MATOS, J. E. X., SILVA, F. J. A., VIEIRA, P. B. Solventes para extração do líquido da castanha de caju (LCC) e compatibilidade ambiental. **Revista Tecnologia**, 29: 101-109, 2008.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza, CE: Universidade Federal do Ceará, 2009. 150 p.

MAZARO, S. M. et. al. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, 38: 1824-1829, 2008.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju; oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, 32: 732-741, 2009.

MOREIRA, A. S. et. al. Antiinflammatory activity of extracts and fractions from the leaves of *Gochnatia polymorpha*. **Phytotherapy Research**, 14: 638-640, 2000.

PORTO, K. R. A. et. al. Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**, 11: 419-422, 2013.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARAES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. (1999). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (5 a aproximação)**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 360 p.

RICE, E. L. **Allelopathy**. 2. ed. New York, NY: Academic Press, 1984. 422 p.

RODRIGUES, F. H. A. **Antioxidante de Derivados do Líquido da Castanha de Caju (LCC) sobre a Degradação Termo oxidativa do Poli (1,4-cis-isopreno)**. 2006. 160 f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) — Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

SANNOMIYA, M. et. al. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima intermedia* A. Juss. Leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, 112: 319–326, 2007.

SCHWARTZ, H. F. **Dry bean production and pest management**. Fort Collins, CO: Publication of the Colorado State University, 2004. 106 p.

SCHWARTZ, H. F.; HARVESON, R. M.; STEADMAN, J. R. **White mold of dry beans**. Lincoln, NE: Published by University of Nebraska-Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, 2012. fact sheet n. 2.918. 3 p. (Crop Series | Diseases).

SERRANO, L. A. L.; PESSOA, P. F. A. P. **Sistema de Produção do Caju**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2016. 196 p. (Versão eletrônica).

SILVA, M. B. et al. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *colletotrichum*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 10: 57-60, 2008.

SILVA, D. A. et. al. Antiproliferative activity of *Luehea candicans* Mart. et Zucc. (Tiliaceae). **Natural Product Research**, 26: 364-369, 2012.

SILVEIRA, E. S. et. al. Líquido da casca da castanha-de-caju (LCC) como repelente do caruncho-do-bambu *Bambusa vulgaris*. **Ciência Florestal**, 29: 1389-1397, 2019.

SIMÕES, C. M. O. et. al. (Orgs.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2017. 502 p.

SKOOG, D. A. et. al. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo, SP: Cengage Learnin, 2015. 1088 p.

SOUSA, C. D. M. et. al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30: 351-355, 2007.

VAREJÃO, E. V. V. et. al. Toxicidade de filtrados de culturas de *Alternaria euphorbiicola* em folhas de *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, 31: 1-9, 2013.

VIEGAS-JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa no controle de insetos. **Química Nova**, 26: 390-400, 2003.

VIEIRA, R. F. et. al. **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. cap. 8. p. 136-151.