



Quantificação e determinação do perfil polifenólico da parte aérea de *Raphanus sativus* L. e *Secale cereale* L. em Sistema Plantio Direto Agroecológico⁽¹⁾.

Monique Souza⁽²⁾; Camila Pimentel Martins⁽³⁾; Renata Bernardo da Silva⁽⁴⁾; Vilmar Muller Junior⁽⁵⁾; Jucinei José Comin⁽⁶⁾; Shirley Kuhnen⁽⁷⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do CNPq, chamada n^o 81/2013

⁽²⁾ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas (PGA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); Florianópolis, Santa Catarina (SC); (monique_souzaaa@yahoo.com.br); ⁽³⁾ Bióloga do Departamento de Engenharia Rural (ENR), UFSC, Florianópolis, SC (camilapmartins@hotmail.com); ⁽⁴⁾ Bolsista de Extensão e estudante de Agronomia da UFSC, Florianópolis, SC (rebernardo.s@gmail.com); ⁽⁵⁾ Mestrando do PGA, UFSC e bolsista CAPES, Florianópolis, SC (vilmar.agronomia@yahoo.com.br); ⁽⁶⁾ Professor do PGA, UFSC, Florianópolis, SC (j.comin@ufsc.br); ⁽⁷⁾ Professor do PGA, UFSC, Florianópolis, SC (shirley.kuhnen@ufsc.br).

RESUMO: A alelopatia é um fenômeno biológico onde uma planta ou comunidade exerce efeito benéfico ou não sobre outra com a liberação de compostos químicos advindas de rotas metabólicas secundárias. O objetivo deste trabalho foi quantificar o conteúdo de polifenóis e flavonoides da parte aérea de centeio e nabo-forrageiro antes e após o acamamento em sistema plantio direto agroecológico. Aos 80 dias após a semeadura e aos 15 dias após o acamamento das espécies, foi coletada a parte aérea das duas espécies, secas em estufa, moídas, peneiradas e obtidos os extratos metanólicos para obtenção do perfil espectral e quantificação. Os teores de polifenóis e flavonoides foram determinados através de ensaios colorimétricos em espectrofotômetro. A espécie nabo-forrageiro solteira e consorciada apresentou os maiores conteúdos de polifenóis e flavonoides na parte aérea antes e após o acamamento das plantas. O cultivo e os resíduos de centeio e de nabo-forrageiro sobre a superfície do solo liberam compostos químicos que podem ter potencial alelopático e auxiliar na redução da emergência de plantas espontâneas.

Termos de indexação: alelopatia, centeio, nabo-forrageiro.

INTRODUÇÃO

O manejo conservacionista do solo e o manejo das plantas espontâneas é um dos maiores desafios do sistema plantio direto (SPD) e da produção agroecológica. As plantas de coberturas têm despertado interesse pelo seu potencial no controle de plantas espontâneas (ALTIERI et al., 2011; BITTENCOURT et al., 2013). No manejo agroecológico, o uso de plantas de cobertura e a manutenção de resíduos sobre a superfície do solo podem ter efeito alelopático, que inibe o crescimento das plantas espontâneas (KONG et al., 2008; CAMARGO, 2013). Esse efeito se deve, em parte, à

produção de metabólitos produzidos pelas plantas e pelo extrato aquoso dos resíduos das plantas de cobertura (WU et al., 2000), como por exemplo, o centeio (*Secale cereale* L.) e o nabo-forrageiro (*Raphanus sativus* L.), revelando-se uma estratégia para o controle das plantas espontâneas nos sistemas de cultivo (ALTIERI et al., 2011).

Uma das técnicas mais utilizadas para estudar o perfil fitoquímico e os compostos produzidos pelas plantas envolve o preparo de extratos aquosos foliares ou do sistema radicular, observando a influência desses extratos na germinação de sementes, na emergência de plântulas e no crescimento de outras plantas (PUTNAM, 1985). O manejo utilizando plantas com potencialidades fitotóxicas pode reduzir o uso de herbicidas e/ou gerar produtos que possam substituir os agroquímicos sintéticos, ocasionando menos danos ao meio ambiente (PATIL, 2007).

O objetivo desse trabalho foi quantificar o conteúdo de polifenóis e flavonoides da parte aérea do centeio e nabo-forrageiro antes e após o acamamento das plantas em SPD agroecológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos e amostragens

Para a obtenção dos extratos foram realizadas coletas da parte aérea do centeio (*Secale cereale* L.) e do nabo-forrageiro (*Raphanus sativus* L.) aos 80 dias após a semeadura (DAS) das plantas de cobertura de inverno e aos 15 dias após o seu acamamento (DAA), em um experimento implantado a campo desde 2009 na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural (EPAGRI), no município de Ituporanga, SC, na região do Alto Vale do Itajaí (Latitude 27° 24' 52", Longitude 49° 36' 9" e altitude de 475m).

O experimento a campo foi instalado em uma área com histórico de cultivo convencional durante 30 anos, em um Cambissolo Húmico (EMBRAPA, 2006). Em 1995 foi adotado o sistema plantio direto



com rotação de culturas e o cultivo de espécies de plantas de cobertura. Em 2009, na instalação do experimento, a vegetação espontânea foi dessecada, usando o herbicida glifosato. A partir de então, não foram mais utilizadas aplicações de agrotóxicos e fertilizantes minerais. Os tratamentos foram: testemunha, com vegetação espontânea (T1); aveia-preta (T2) (*Avena strigosa* L.); centeio (T3) (*Secale cereale* L.); nabo-forrageiro (T4) (*Raphanus sativus* L.); nabo-forrageiro + centeio (T5) e nabo-forrageiro + aveia-preta (T6). As espécies foram semeadas a lanço sobre a superfície do solo. As quantidades de sementes por hectare foram os valores mais elevados da recomendação de MONEGAT (1991) + 50%. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com oito repetições e cada unidade experimental possuía 5 x 5 m, totalizando 25m².

No campo foram coletadas três sub-amostras aleatoriamente de cada parcela contendo as espécies *Secale cereale* L. solteira (T3), *Raphanus sativus* L. solteira (T4) e o consórcio das duas espécies (T5 e T6), para constituir uma única amostra composta e representativa da parcela. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com três repetições. As amostras foram homogeneizadas, identificadas e acondicionadas em tubos falcon (50 mL), transportadas para o laboratório em caixa de isopor com gelo seco. As amostras foram liofilizadas (EDWARDS Micro-Modulyo) até total remoção da umidade a -54°C e, em seguida, trituradas em moinho, peneiradas (0,42 mm) e acondicionadas novamente em tubos falcon e conservadas à -20°C para posterior análise.

Extrações e análises

Para a extração dos polifenóis e flavonoides, 0,1g de amostra foi adicionado a uma solução de metanol 80%, seguido de agitação por 15 min, filtração sob vácuo e centrifugação a 4.000 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante coletado para a análise. O conteúdo de compostos polifenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON & ROSSI, 1965) utilizando-se uma curva padrão externa de ácido gálico e expressos em mg de equivalentes de ácido gálico.g⁻¹ massa seca (mgEAG.g⁻¹ MS). O conteúdo de flavonoides totais foi determinado pela metodologia descrita por Popova et al. (2004), utilizando-se uma curva padrão externa de quercetina (Sigma-Aldrich) e expressos em mg de equivalentes de quercetina.g⁻¹ massa seca (mgEQ.g⁻¹ MS). O extrato bruto foi submetido à espectrofotometria UV-visível (Shimadzu 2301) para a determinação da quantidade de polifenóis e flavonoides através da leitura da absorbância a 765 nm e 425 nm respectivamente. Foi realizada a varredura dos extratos metanólicos entre os comprimentos de onda de 200 a 800 nm. As extrações foram realizadas em triplicatas no laboratório.

Análise estatística

Os dados de quantificação foram submetidos ao teste de normalidade e, quando necessário, foi realizada a transformação dos dados. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e, quando os efeitos foram significativos, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$), utilizando-se o software Assistat®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil espectrofotométrico dos extratos metanólicos revelou teores superiores de compostos fenólicos para os tratamentos centeio solteiro e centeio + nabo-forrageiro aos 80 DAS (**Figura 1**). Isso ocorreu, pois estes extratos estavam diluídos 20 vezes, enquanto os extratos que continham a espécie nabo-forrageiro estavam diluídos 100 vezes. Aos 15 DAA todos os tratamentos apresentaram um perfil espectral semelhante em função da degradação dos compostos após o acamamento das plantas, com exceção do nabo + centeio que continuou apresentando teores maiores após acamado (**Figura 2**).

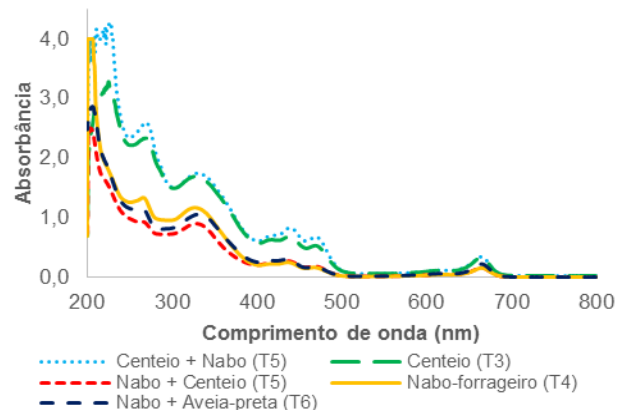


Figura 1 – Perfil espectrofotométrico de extratos da parte aérea de espécies de plantas de cobertura do solo em SPD aos 80 dias após a semeadura.

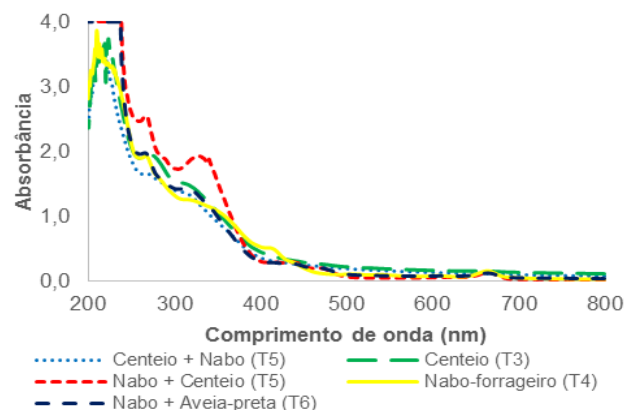


Figura 2 – Perfil espectrofotométrico de extratos da parte aérea de espécies de plantas de cobertura do solo em SPD aos 15 dias após o acamamento.



Os maiores teores de polifenóis aos 80 DAS, foram obtidos nos extratos da espécie nabo-forageiro, nos tratamentos nabo-forageiro solteiro e nos tratamentos consorciados com centeio e aveia, que diferiram dos tratamentos centeio e centeio + nabo-forageiro que obtiveram teores mais baixos (**Tabela 1**). Aos 15 DAA não houve diferença entre os tratamentos em relação aos teores de polifenóis. O mesmo ocorreu com os teores de flavonoides aos 80 DAS, onde não houve diferença significativa entre os tratamentos. Aos 15 DAA o conteúdo de flavonoides foi maior no tratamento nabo-forageiro solteiro que somente diferiu do tratamento centeio solteiro, que apresentou o menor conteúdo de flavonoides (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Quantificação de polifenóis e flavonoides de extratos da parte aérea de espécies de plantas de cobertura em sistema plantio direto de agroecológico aos 80 dias após a semeadura e aos 15 dias após o acamamento das plantas.

Tratamentos	Polifenóis	Flavonoides
	mgEAG.g ⁻¹ MS	mgEQ.g ⁻¹ MS
-----80 dias-----		
Centeio	0,66 bA ⁽¹⁾	0,21 aA
Centeio + Nabo	0,72 bA	0,26 aA
Nabo-forageiro	2,37 aA	0,85 aA
Nabo + Centeio	2,28 aA	0,84 aA
Nabo + Aveia	1,99 aA	0,68 aA
-----15 dias-----		
Centeio	0,36 aB	0,09 bB
Centeio + Nabo	0,26 aB	0,14 abA
Nabo-forageiro	0,42 aA	0,21 aA
Nabo + Centeio	0,47 aA	0,17 abA
Nabo + Aveia	0,45 aA	0,14 abA

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra minúscula (entre tratamentos) e maiúscula (entre épocas) na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($\alpha=0,05$).

Os maiores conteúdos de polifenóis e flavonoides, tanto aos 80 DAS como aos 15 DAA com a espécie nabo-forageiro solteira e consorciada, pode ser atribuído às características da espécie, por concentrarem uma maior quantidade de compostos fenólicos na parte aérea, quando comparado ao centeio, que pode ter concentrado os compostos nas raízes ou nos seus grãos, já que o centeio se encontrava no estágio de espigamento e o nabo-forageiro em florescimento quando foram coletados aos 80 dias.

Segundo Weidner et al. (2000), o conteúdo de compostos fenólicos do centeio varia conforme o estágio fenológico, atingindo níveis mais elevados no início da floração. Além disso, a qualidade do material vegetal pode ter influenciado, como por exemplo, o menor teor de lignina e relação C/N do material, os quais acabam favorecendo a liberação dos compostos presentes no tecido vegetal

(MARTINS et al., 2014). O centeio, por apresentar uma relação C/N mais alta e um material mais fibroso quando comparado com o nabo-forageiro, tem uma liberação mais lenta dos nutrientes e dos compostos secundários contidos no tecido vegetal. Segundo Monquero et al. (2009), a atividade alelopática e a liberação desses compostos depende diretamente da qualidade do material vegetal.

Em relação às épocas de avaliação, houve uma redução no conteúdo de polifenóis e flavonoides dos 80 DAS para os 15 DAA em todos os tratamentos. Entretanto, somente os tratamentos centeio e centeio + nabo-forageiro diferiram significativamente no conteúdo de polifenóis, e o tratamento centeio solteiro em relação ao conteúdo de flavonoides dos 80 dias para os 15 dias de avaliação (**Tabela 1**). Isso pode ser explicado em função da decomposição dos resíduos vegetais das duas espécies avaliadas. Aos 15 dias, as plantas já tinham sido acamadas e iniciado o seu processo de degradação, e o conteúdo de compostos fenólicos e de outros nutrientes contido no tecido vegetal das duas espécies pode ter sido liberado para o solo sobre diversas formas, como lixiviação, volatilização e decomposição do material pelos microorganismos do solo (RICE, 1984; BERTIN, 2003; CRUSCIOL, et al. 2005).

CONCLUSÕES

A espécie nabo-forageiro solteira e consorciada apresentou os maiores conteúdos de polifenóis e flavonoides na parte aérea antes e após o acamamento das plantas.

O cultivo e os resíduos de centeio e de nabo-forageiro sobre a superfície do solo liberam compostos químicos com potencial alelopático, que podem auxiliar na redução da emergência de plantas espontâneas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq - Chamada nº 81/2013 e à FAPESC, pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

ALTIERI, M. A. et al. Enhancing crop productivity via weed suppression in organic no-till cropping systems in Santa Catarina, Brazil. *Journal of Sustainable Agriculture*, v. 35, n. 8, p. 855-869, 2011.

BERTIN, C.; YANG, X.; WESTIN, L. A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil*, v. 256, p.67-83, 2003.



- BITTENCOURT, H. v. H. et al. Effect of winter cover crop biomass on summer weed emergence and biomass production. *Journal of Plant Protection Research*, v. 53, n. 3, p. 248-252, 2013.
- CAMARGO, A. P. Aplicação de compostos polifenólicos de *Canavalia ensiformis* (L.) DC. e *Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Holland na germinação e na emergência de plantas espontâneas. 2013. 119 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Florianópolis, 2013.
- CRUSCIOL, C. A. et al. Persistência de palhada e liberação de nutrientes do nabo-forrageiro no plantio direto. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 40, n. 2, p.161-168, 2005.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 2ªed. Brasília: Embrapa Produção de informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 312p. 2006
- KONG, C. H.; LI, H. B.; HU, F.; XU, X. H.; WANG, P. Allelochemicals released by rice roots and residues in soil. *Plant Soil*, Fortaleza, v. 288, p. 47-58, 2008.
- PATIL, C. K. Allelopathic effect of botanicals on major weeds of onion (*Allium cepa* L.) 2007. Thesis (Master of Science in crop physiology, University of Agricultural Sciences, Dharwad
- MARTINS, R. P. et al. Mineralização do nitrogênio de plantas de cobertura, solteiras e consorciadas, depositadas sobre um solo com histórico de cultivo de cebola. *Revista Ceres*, v.61, n.4, p. 587-596, 2014.
- MONEGAT, C. Plantas de cobertura do solo: características e manejo em pequenas propriedades. Chapecó: [Edição do autor], 1991, 336p.
- MONQUERO, P. A. AMARAL, L. R.; INÁCIO, E. M.; BRUNHARA, J.P.; BINHA, D.P.; SILVA, P.V.; SILVA, A.C. Efeito de adubos verdes na supressão de espécies de plantas daninhas. *Planta Daninha*, v. 27, n. 1, p. 85-95, 2009.
- POPOVA, M. et al. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of popular type propolis. *Phytochemical Analysis*. 15:235-240, 2004.
- PUTMAN, A. R. Allelopathic Research in Agriculture. *The Chemistry of Allelopathy*, v. 268, p.1- 8, 1985
- RICE, E. L. Allelopathy. 2. ed. New York: Academic Press, 1984. 422 p.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16:144-58, 1965.
- WEIDNER, S.; AMAROWICZ, R.; KARAMÁC, M.; FRACZEK, E. Changes in endogenous phenolic acids during development of *Secale cereale* caryopses and after dehydration treatment of unripe rye grains. *Plant Physiol Biochem*, v. 38, p. 595-602, 2000.
- WU, H. et al. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): variation of phenolic acids in root tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 5321-5325, 2000.