

## Influência da adubação mineral (N-P-K) e sazonalidade no rendimento e teor de flavonóides em indivíduos masculinos de *Baccharis trimera* Less. (Asteraceae) - Carqueja

Borella, J.C.<sup>1</sup>; Fontoura, A.<sup>1</sup>; Menezes Jr., A.<sup>2</sup>; França, S.C.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Ribeirão Preto; <sup>2</sup>Unidade de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Ribeirão Preto. Av. Costabile Romano n.2201, Ribeirão Preto, SP, CEP 14096-380

**RESUMO:** Desenvolveu-se um ensaio de cultivo, variando-se os nutrientes em termos de N, P e K em indivíduos masculinos de *Baccharis trimera* Less. (Carqueja), para observar a produção de fitomassa e quantificação espectrofotométrica de flavonóides. O experimento foi conduzido em 3 blocos e 8 tratamentos. Cada parcela era constituída de 3 fileiras duplas contendo 48 mudas. Os tratamentos realizados foram: 1. 60 kg de N/ha; 2. 60 kg de P/ha; 3. 60 kg de K/ha; 4. 60 kg de N + 60 kg de P/ha; 5. 60 kg de N + 60 kg de K/ha; 6. 60 kg de P + 60 kg de K/ha; 7. 60 kg de N + 60 kg de P + 60 kg de K/ha e 8. testemunha. Os dados foram obtidos após 6 meses do plantio das mudas (inverno), 3 meses após a primeira colheita (primavera) e três meses após a segunda colheita (verão). Os dados agrônômicos obtidos foram o peso fresco e seco do material coletado, enquanto a quantidade de flavonóides foi determinada por métodos espectrofotométricos (com AlCl<sub>3</sub>/420 nm), usando-se a rutina como padrão. Os resultados obtidos neste experimento, tanto em relação aos aspectos agrônômicos quanto à quantidade de flavonóides não foram estatisticamente diferentes entre os diversos tratamentos nas três colheitas (Teste de Tukey  $\leq 5\%$ ), no entanto pôde-se observar um aumento no peso fresco e seco nas plantas com 9 meses de cultivo (colhidas na primavera) e no teor de flavonóides em plantas com um ano de cultivo (colhidas no verão).

**Palavras chave:** *Baccharis trimera*, Carqueja, Flavonas, Adubos.

**ABSTRACT:** Effect of mineral fertilizing (N-P-K) and seasonality in yield and total flavonoids in male individuals of *Baccharis trimera* Less. (Asteraceae) – Carqueja. An agronomic assay was conducted to evaluate biomass production and to spectrophotometrically quantify flavonoids in male individuals of *Baccharis trimera* Less. (Carqueja) varying N, P and K nutrients. Experiments were conducted in 3 blocks of 8 treatments. Each strip of 3 double rows received 48 seedlings. The treatments involved 60 kg N/ha; 60 kg P/ha; 60 kg K/ha; 60 kg N + 60 kg P/ha; 60 kg N + 60 kg K/ha; 60 kg P + 60 kg K/ha; 60 kg N + 60 kg P + 60 kg K/ha and the control. Data were recorded 6 months after planting, 3 months after the first harvesting and 3 months after the second harvesting. Fresh and dry weights were evaluated and total flavonoids were quantified through spectrophotometric methods using AlCl<sub>3</sub> at 420 nm and rutin as standard. Obtained results did not differ statistically within different treatments and periods of harvest (Tukey test  $\leq 5\%$ ), however plants after 9 months of culture, harvested in the spring, showed increased fresh and dry weights while plants cultured for 1 year, harvested in the summer, displayed enhanced yields of flavonoids.

**Key words:** *Baccharis trimera*, Carqueja Flavones, Manure.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Baccharis*, incluído em Asteraceae, é constituído por cerca de 400 espécies, muitas das quais semelhantes entre si e com uso na medicina popular, sendo utilizadas indistintamente com o nome de "carqueja" contra reumatismo, anorexia, gripes e resfriados, mas principalmente no tratamento de problemas digestivos e hepáticos (Sousa, 1991). *Baccharis trimera* Less tem grande utilização na produção de medicamentos fitoterápicos industrializados ou magistrais. As "carquejas" são encontradas em quase todo Brasil, concentrando-se na região Sul. Ocorrem numa grande variedade de solos, sendo *B. trimera* a mais comum e em alguns estados como Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são invasoras de pastagens. Até o momento, não existe

recomendação para a aplicação de adubos nas culturas dessa espécie e não se sabe quais os efeitos que irão provocar na composição química do vegetal. No entanto, *B. trimera*, espécie dióica, também denominada cientificamente por *Baccharis genistelloides* var. *trimera* Backer, já foi submetida a estudos químicos, mostrando que possui vários terpenóides e esteróides (Herz *et al*, 1977; Bohlmann & Zdero, 1969). Alguns índices farmacognósticos realizados mostraram valores diferentes entre plantas masculinas e femininas, sugerindo diferenciação química em termos quantitativos (Pavan, 1952), embora sejam as possuidoras de flores masculinas as que apresentam cultivo economicamente viável. Por outro lado, flavonóides (quercetina, apigenina, entre outros) foram isolados e Soicke & Leng-Peschlow (1997) mostraram seus efeitos anti-hepatotóxicos em ratos intoxicados por faloidina

Recebido para publicação em 10/05/01 e aceito para publicação em 29/10/01

e Gene *et al.* (1992; 1995) realizaram ensaios mostrando efeito antiinflamatório e analgésico de extratos aquosos de espécies do gênero *Baccharis*, em ratos, evidenciando que os constituintes ativos seriam saponinas e a rutina.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver ensaios de adubação com indivíduos masculinos de *B. trimera*, aliado à quantificação de flavonóides, de tal modo que seja otimizado o rendimento no cultivo, tanto no aspecto de obtenção de fitomassa quanto no teor desses princípios ativos.

## MATERIAL E MÉTODO

O experimento relacionado ao ensaio de adubação foi realizado no Campo Experimental da Universidade de Ribeirão Preto, localizado em Ribeirão Preto, estado de São Paulo, estando na latitude de 21°10'42"S e longitude de 42°48'24"O. O município está em uma altitude de 535 metros e se caracteriza por terras férteis, clima tropical úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno.

Para produção de mudas masculinas de *B. trimera* utilizou-se o método de estaquia, onde alguns segmentos caulinares com cerca de 25 a 30 cm foram cortados e plantados em saquinhos de muda contendo como substrato uma mistura de terra e esterco na proporção de 2 : 1. Uma análise botânica envolvendo as flores das matrizes foi realizada (Alice *et al.*, 1995) no sentido de excluir as plantas femininas deste cultivo; exemplar do material cultivado foi colhido e depositado no herbário da Unidade de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Ribeirão Preto sob n. 25. Após 3 meses as mudas já estavam prontas para ir ao campo. Foram utilizadas mudas de *B. trimera* com brotos vigorosos e com mais de 10 cm de comprimento. O terreno que estava em pousio à cerca de 3 anos, foi capinado, arado e destorroado. Foi realizada a análise de solo e elevado o índice de saturação de bases a 50%. O plantio foi realizado em fileiras duplas, sendo o espaçamento de 1 m entre as fileiras e estas com 0,5 m entre si, com 0,5 m na linha de plantio. As covas tiveram pelo menos 0,3 m de profundidade por 0,2 m de diâmetro. Apesar de *B. trimera* ser uma planta resistente à seca, ela foi irrigada uma a duas vezes por semana, para não retardar o crescimento. Foi utilizado cobertura de solo com palhadas, logo após o plantio, para evitar o contato das folhas com a terra. O experimento foi conduzido com 3 blocos, portanto com 3 repetições e 8 tratamentos. Cada parcela teve 3 fileiras duplas contendo 48 mudas no total, sendo desprezadas as duas fileiras laterais e as quatro plantas de cada ponta da fileira

do meio. Sendo assim, foi considerada para coleta de dados somente as 8 plantas centrais, que foram cortadas a 10 cm do solo. Os tratamentos foram:

1. Adubação química, 60 kg de N/ha
2. Adubação química, 60 kg de P/ha
3. Adubação química, 60 kg de K/ha
4. Adubação química, 60 kg de N + 60 kg de P/ha
5. Adubação química, 60 kg de N + 60 kg de K/ha
6. Adubação química, 60 kg de P + 60 kg de K/ha
7. Adubação química, 60 kg de N + 60 kg de P + 60 kg de K/ha
8. Testemunha

Os adubos utilizados foram o sulfato de amônia, como fonte de N, super fosfato simples, como fonte de P e cloreto de potássio, como fonte de K. A distribuição dos tratamentos entre as parcelas foi feita de maneira aleatória, por sorteio. Os tratamentos foram feitos no plantio e quando se realizaram as coletas das amostras.

Os dados coletados foram peso fresco e peso seco, em três coletas, sendo a primeira 6 meses após o plantio (inverno); a segunda, 9 meses após o plantio (primavera) e a terceira, 12 meses após o plantio (verão). Utilizando-se tesouras de poda, colheu-se os ramos a 10 cm do nível do solo. Estes foram levados para pesagem antes e depois da secagem, que foi realizada à sombra. Após 4 a 5 dias, quando o teor de umidade nas amostras estavam em níveis inferiores a 15% (p/p), procedeu-se à moagem, em moinho de facas, obtendo-se desta forma o material pulverizado que foi submetido à análise química. Este tipo de análise foi estabelecido, através de técnica espectrofotométrica, visando dosear os flavonóides nestas amostras.

O método utilizado baseia-se numa reação cromática dos compostos flavonoídicos em geral, sendo assim há o doseamento dos constituintes totais, que possuem a mesma propriedade química, embora se exprimam os resultados num deles (estimados em rutina). Na dosagem dos flavonóides, após a extração e a purificação das amostras, empregou-se a reação com cloreto de alumínio em técnica proposta por Costa 1982. As análises espectrofotométricas foram realizadas através de espectrofotômetro mod. 1700-TA Metrolab, a 420 nm, 15 minutos após a adição de  $AlCl_3$  às amostras. Todos os testes analíticos foram feitos em triplicata.

Após a coleta e tabulação dos dados agrônômicos (peso fresco e peso seco), bem como o doseamento e cálculo do teor de flavonóides (curva padrão e obtenção da porcentagem de flavonóides estimados em rutina), para estas mesmas amostras, foi realizado tratamento estatístico (teste de Tukey – 5%) para avaliarmos as possíveis diferenças entre os valores encontrados durante todo a ensaio de adubação.

**TABELA 1.** Análise química do solo do local do experimento

Acidez CaCl <sub>2</sub>	Matéria Orgânica	Fósforo Resina	Mmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup>						Sat.	% em relação CTC			
			K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC		V%	K%	Mg%	Ca%
pH 5,2	g/kg 25	P (mg/dm <sup>3</sup> ) 13	2,3	35	14	31	0	82,3	62,3	2,8	17	42,5	

amostragem coletada na profundidade de 0-20 cm

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Após doze meses de cultivo de indivíduos masculinos de *B. trimera*, constatou-se que a espécie é extremamente rústica e se desenvolve bem em solos com teores bem diversos de nutrientes. Os resultados obtidos neste experimento, tanto em relação aos aspectos agrônômicos (peso fresco e peso seco) quanto à quantidade de flavonóides não foram estatisticamente diferentes entre si, até o nível de 5% pelo teste de Tukey, entre os diversos tratamentos nas três colheitas (tabelas 2, 3 e 4). No entanto pôde-se observar um aumento na média do peso fresco na colheita de primavera (147% em relação à média da colheita de inverno e 59% em relação à média da colheita de verão) e no peso seco nas plantas também colhidas na primavera (83% em relação à média da colheita de inverno e 52% em relação à média da colheita

de verão). Observa-se também um incremento na média do teor de flavonóides em plantas colhidas no verão (72% em relação à média do teor de flavonóides em plantas colhidas no inverno e 80% em relação à média do teor de flavonóides em plantas colhidas na primavera) (tabela 5).

## CONCLUSÃO

Desse modo, pode-se concluir que, apesar dos tratamentos testados não mostrarem eficácia em relação à produção de fitomassa, produção de droga e produção de flavonóides, podemos sugerir que fatores sazonais possam influir, propiciando uma droga com maior quantidade de massa na primavera e com maior teor de princípios ativos no verão.

**TABELA 2.** Média dos valores obtidos na primeira colheita, com seis meses após o plantio (inverno)

Tratamentos	Peso fresco (Kg)	Peso seco (Kg)	Flavonóides (% p/p)*
Parcela 1 (N)	2,5067 <sup>a</sup>	0,9367 <sup>a</sup>	0,4067 <sup>a</sup>
Parcela 2 (P)	2,5733 <sup>a</sup>	0,9000 <sup>a</sup>	0,4933 <sup>a</sup>
Parcela 3 (K)	3,0900 <sup>a</sup>	1,0667 <sup>a</sup>	0,4267 <sup>a</sup>
Parcela 4 (N/P)	3,8433 <sup>a</sup>	1,2667 <sup>a</sup>	0,6667 <sup>a</sup>
Parcela 5 (N/K)	3,2667 <sup>a</sup>	1,0833 <sup>a</sup>	0,5433 <sup>a</sup>
Parcela 6 (P/K)	3,2167 <sup>a</sup>	1,1000 <sup>a</sup>	0,6467 <sup>a</sup>
Parcela 7 (N/P/K)	3,5333 <sup>a</sup>	1,1900 <sup>a</sup>	0,5233 <sup>a</sup>
Parcela 8 (Testem.)	2,7633 <sup>a</sup>	0,9500 <sup>a</sup>	0,4067 <sup>a</sup>

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si, até o nível de 5% pelo teste de Tukey (Peso fresco: Desvio padrão = 0,5174; Erro padrão da média = 0,2788; Coeficiente de variação = 15,58. Peso seco: Desvio padrão = 0,1774; Erro padrão da média = 0,0901; Coeficiente de variação = 14,71. Flavonóides (% p/p): Desvio padrão = 0,1680; Erro padrão da média = 0,0916; Coeficiente de variação = 30,85).

\* teor de flavonóides estimados em rotina.

**TABELA 3.** Média dos valores obtidos na segunda colheita, com nove meses após o plantio (primavera)

Tratamentos	Peso fresco (Kg)	Peso seco (Kg)	Flavonóides (% p/p)*
Parcela 1 (N)	7,5333 <sup>a</sup>	1,8667 <sup>a</sup>	0,6800 <sup>a</sup>
Parcela 2 (P)	7,5833 <sup>a</sup>	2,1000 <sup>a</sup>	0,4967 <sup>a</sup>
Parcela 3 (K)	7,9667 <sup>a</sup>	2,0167 <sup>a</sup>	0,5333 <sup>a</sup>
Parcela 4 (N/P)	6,8333 <sup>a</sup>	1,7000 <sup>a</sup>	0,4267 <sup>a</sup>
Parcela 5 (N/K)	7,1000 <sup>a</sup>	1,7500 <sup>a</sup>	0,5700 <sup>a</sup>
Parcela 6 (P/K)	7,2333 <sup>a</sup>	1,8333 <sup>a</sup>	0,4233 <sup>a</sup>
Parcela 7 (N/P/K)	8,6333 <sup>a</sup>	2,1667 <sup>a</sup>	0,4600 <sup>a</sup>
Parcela 8 (Testem.)	8,3333 <sup>a</sup>	2,1000 <sup>a</sup>	0,3400 <sup>a</sup>

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si, até o nível de 5% pelo teste de Tukey (Peso fresco: Desvio padrão = 1,6458; Erro padrão da média = 0,9502; Coeficiente de variação = 21,51. Peso seco: Desvio padrão = 0,3857; Erro padrão da média = 0,2227; Coeficiente de variação = 19,86. Flavonóides (% p/p): Desvio padrão = 0,1211; Erro padrão da média = 0,0699; Coeficiente de variação = 24,66).

\* teor de flavonóides estimados em rotina

**TABELA 4.** Média dos valores obtidos na terceira colheita, com doze meses após o plantio (verão)

Tratamentos	Peso fresco (Kg)	Peso seco (Kg)	Flavonóides (% p/p)*
Parcela 1 (N)	4,2500 <sup>a</sup>	1,3333 <sup>a</sup>	0,9167 <sup>a</sup>
Parcela 2 (P)	2,6833 <sup>a</sup>	0,8167 <sup>a</sup>	0,7067 <sup>a</sup>
Parcela 3 (K)	4,2667 <sup>a</sup>	1,0333 <sup>a</sup>	0,8867 <sup>a</sup>
Parcela 4 (N/P)	4,7667 <sup>a</sup>	1,1267 <sup>a</sup>	0,8833 <sup>a</sup>
Parcela 5 (N/K)	4,9667 <sup>a</sup>	1,3333 <sup>a</sup>	0,7800 <sup>a</sup>
Parcela 6 (P/K)	4,5167 <sup>a</sup>	1,2300 <sup>a</sup>	1,0500 <sup>a</sup>
Parcela 7 (N/P/K)	6,7167 <sup>a</sup>	1,7500 <sup>a</sup>	0,9867 <sup>a</sup>
Parcela 8 (Testem.)	6,2833 <sup>a</sup>	1,6333 <sup>a</sup>	0,8600 <sup>a</sup>

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si, até o nível de 5% pelo teste de Tukey (Peso fresco: Desvio padrão = 2,2712; Erro padrão da média = 1,3113; Coeficiente de variação = 47,25. Peso seco: Desvio padrão = 0,6021; Erro padrão da média = 0,3476; Coeficiente de variação = 46,96. Flavonóides (% p/p): Desvio padrão = 0,2289; Erro padrão da média = 0,1321; Coeficiente de variação = 25,90).

\* teor de flavonóides estimados em rotina.

**TABELA 5.** Média geral dos valores obtidos nas colheitas

Colheita	Peso fresco (Kg)	Peso seco (Kg)	Flavonóides (% p/p)*
Inverno (1 <sup>o</sup> corte)	3,0992	1,0617	0,5142
Primavera (2 <sup>o</sup> corte)	7,6521	1,9417	0,4913
Verão (3 <sup>o</sup> corte)	4,8063	1,2821	0,8837

\* teor de flavonóides estimados em rotina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALICE, C. B., SIQUEIRA, N. C.S., MENTZ, L. A., SILVA, G. A. A. B., JOSÉ, K. F. D. **Plantas medicinais de uso popular – atlas farmacognóstico**. 1<sup>a</sup> ed. Canoas: Ulbra, 1995. p. 40-1.
- BOHLMANN, F., ZDERO, C. Über neue Terpendervate aus *Baccharis trimera*. **Tetrahedron Letters**, v. 28, p. 2419-21, 1969.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia – farmacognosia experimental**. 2<sup>a</sup> ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian. 1982. p. 756-9.
- GENE, R. M., MARÍN, E., ADZET, T. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of three species of the genus *Baccharis*. **Planta Medica**. v. 58, p.565-566, 1992.
- GENE, R. M., CARTAÑÁ, C., ADZET, T., MARÍN, E., PARELLA, T., CAÑIGUERAL, S. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. **Planta Medica**. v. 62, p. 232-235, 1996.
- HERZ, W., PILOTTI, A. M., SÖDERHOLM, A. C., SHUHAMA, I. K., VICHNEWSKI, W. New entclerodane-type diterpenoids from *Baccharis trimera*. **Journal of Organic Chemistry**. v. 42, p.3913-3917. 1977.
- PAVAN, A. G. *Baccharis trimera* Less. (carqueja amarga) uma planta da medicina popular brasileira. **Anais da Faculdade Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo**. v. 108, p. 205-214. 1952.
- SOUSA, M. P., MATOS, M. E. O., MATOS, F. J. A., MACHADO, M. I. L., CRAVEIRO, A. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. 1<sup>a</sup> ed. Fortaleza: UFC. 1991. p. 223-228.
- SOICKE, H., LENG-PESCHLOW, E. Characterization of flavonoids from *Baccharis trimera* and their antihepatotoxic properties. **Planta Medica**. v. 53, p.37-39, 1987.