

Produção de biomassa e de flavonóides totais por fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth) sob diferentes níveis de fósforo em solução nutritiva

Mendes, A.D.R.; Martins, E.R.; Fernandes, L.A.; Marques, C.C.L.

Núcleo de Ciências Agrárias – Universidade Federal de Minas Gerais – Av. Osmani Barbosa, s/nº – Caixa Postal 135 – Montes Claros-MG – CEP:39404-006. E-mail: larnaldo@nca.ufmg.br.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi determinar a relação entre a concentração de flavonóides totais nas folhas e nos frutos da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth) e o efeito de diferentes níveis de fósforo, em solução nutritiva, na produção de matéria seca e fresca e teores totais por esta espécie. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis repetições e cinco tratamentos, sendo cultivadas seis plantas por parcela. Após 90 dias de cultivo em solução nutritiva, as plantas foram colhidas e foram determinados os pesos de matéria fresca e de matéria seca e os teores de flavonóides totais através de espectrofotometria utilizando AlCl_3 a 425 nm e a rutina como padrão. Verificou-se que, com o aumento dos níveis de fósforo na solução nutritiva, houve uma redução de produção de biomassa. O maior teor de flavonóides totais foi obtido com 1 mg/L de P.

Palavras-Chave: *Dimorphandra mollis* Benth, fósforo, flavonóides totais, plantas medicinais.

ABSTRACT: Biomass and Total flavonoids production by *Dimorphandra mollis* Benth in different phosphorus levels in nutrient solution. The aim of this work was to determine the effect of phosphorus in the relationship between total flavonoids concentration in leaves and fruits of *Dimorphandra mollis* Benth and the effect of different phosphorus levels, in nutrient solution, in the fresh and dry matter production by this specie. The experimental design was completely randomized with six replications and five treatments, with six plants per plot. The treatments were five levels of P in nutrient solution: 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg L⁻¹ of P. After 90 days of cultivate in nutrient solution, the plants were harvested and fresh and dry weights were evaluated and total flavonoids were quantified through spectrophotometric method using AlCl_3 at 425 nm and rutin as standard. It was verified the increase of phosphorus levels and the biomass decrease. The highest total flavonoids concentration was verified with 0.1 mg/L of P.

Key words: *Dimorphandra mollis* Benth, phosphorus, total flavonoids, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

A demanda por plantas medicinais nativas do Brasil tende a aumentar com as descobertas de substâncias que não podem ser obtidas sinteticamente.

A fava d'anta, *Dimorphandra mollis* Benth, é uma árvore que apresenta vagens carnosas ricas em rutina, quercetina e ramnose. Estes flavonóides são utilizados pela indústria farmacêutica em grande escala, tendo a maior importância a rutina. A rutina tem atividade vitamínica P, diminui a permeabilidade dos glóbulos vermelhos, protege a vitamina C contra a oxidação e normaliza a resistência e a permeabilidade das paredes dos vasos capilares.

A exploração da *D. mollis* pela indústria farmacêutica tem ocasionado um extrativismo

predatório em alta escala, sendo necessárias medidas para a conservação da espécie. Atualmente tem havido iniciativas visando o cultivo pelas indústrias que se preocupam com o fornecimento futuro desta espécie, que pode ser extinta ao longo prazo. No entanto, como ocorre com outras espécies de plantas medicinais, as técnicas de cultivo da *D. mollis* são ainda poucas conhecidas, principalmente quanto às exigências nutricionais e respostas aos corretivos e fertilizantes do solo.

O emprego de técnicas agrônomicas adequadas para o cultivo de espécies vegetais, objetivando a produção de fitoterápicos eficazes, poderia apresentar várias vantagens, como a produção de medicamentos de custos mais acessíveis às populações carentes, ao mesmo tempo em que

poderia também reduzir os custos com importação de drogas sintéticas. Os programas oficiais de saúde poderiam ter seus custos reduzidos por meios da obtenção econômica de vários produtos oriundos de plantas medicinais (Oliveira & Martins, 1998).

Segundo Oliveira & Martins (1998), outra vantagem, do cultivo de plantas medicinais, seria o aumento da produção de matéria-prima para indústrias farmacêuticas que colaborasse para a redução da colheita de plantas sem a devida reposição das mesmas em seus locais de ocorrência. A prática de coleta silvestre tem promovido a redução da diversidade genética de muitas espécies vegetais de importância medicinal, podendo, inclusive, levar ao seu desaparecimento local ou a extinção.

Segundo Castro *et al.* (2001), outro aspecto que envolve o cultivo das plantas medicinais é o estudo e a preservação da biodiversidade, de modo a evitar a extinção das espécies em seu ambiente de ocorrência. A exploração direta de plantas de uso medicinal da flora nativa, por meio da extração direta nos ecossistemas tropicais, ou seja, extrativismo) tem levado a redução drástica das populações naturais de inúmeras espécies, colocando em risco a flora medicinal e a possibilidade de descoberta de novos fármacos.

No cultivo de plantas medicinais é necessário o entendimento dos vários fatores (disponibilidade de nutrientes e clima, entre outros) que influenciam a produção de biomassa e de metabólitos pelas plantas medicinais, tanto em quantidade quanto em qualidade para a produção de medicamentos (Ming, 1994).

Segundo Castro & Ferreira (2000), a qualidade das plantas medicinais está relacionada ao seu teor de princípio ativo e, portanto, a sua eficácia terapêutica. Assim, o conhecimento dos fatores que influenciam a variação dos compostos químicos nas plantas medicinais permite obter uma matéria-prima de melhor qualidade.

Para o aumento da produção de plantas medicinais, em geral, há interesse no uso de irrigação e fertilização. No entanto, para tais culturas, a produção de metabólitos secundários que é importante para os efeitos farmacológicos, pode ser influenciada pela nutrição da planta ou suprimento de água (Franz, 1983). Para a espécie *Ginkgo biloba*, o fósforo apresenta pouco efeito sobre o teor de flavonóides enquanto que o nitrogênio tem uma grande influência (Quiao *et al.*, 2001). A carqueja sob vários níveis de NPK, não apresentou diferenças significativas quanto ao teor de flavonóides (Borella *et al.*, 2001). Já para a camomila, foi observado o efeito positivo da adubação com N e P e efeito negativo de K (Franz, 1983). Em citros, a deficiência de Zn promoveu incrementos nos teores de flavonóides nas folhas (Manthey *et al.*, 2000).

Existem poucos estudos relacionando a nutrição das plantas de fava d'anta com o seu desenvolvimento e produção de metabólitos secundários. Rocha *et al.* (1996a, b) estudando adubação com P e calagem em fava d'anta, verificou que não houve efeito significativo da correção do solo para produtividade de matéria seca, altura de plantas e diâmetro do caule. Entretanto, a adição de 100g de calcário por cova resultou, respectivamente, em um aumento de 28, 14 e 186% no crescimento em altura, diâmetro e número de vagens por inflorescência em relação a dose 0. O efeito de fósforo no plantio (18g de P_2O_5 /cova aplicado no plantio juntamente com 200g/cova de calcário dolomítico) aumentou em 17% o diâmetro do caule em relação a dose 0. Segundo esse autor, as baixas respostas proporcionadas pela fava d'anta à adição de fertilizantes e corretivos evidenciam a baixa exigência nutricional desta espécie. A adubação em cobertura com cloreto de potássio nas dosagens de 100g/planta, no primeiro ano, de 200g/planta, no segundo e de 250g/planta a partir do terceiro ano afetou o desenvolvimento dos frutos.

O objetivo do presente trabalho foi determinar a relação entre a produção de flavonóides totais nas folhas e nos frutos da fava d'anta e o efeito de diferentes níveis de fósforo, em solução nutritiva, na produção de matéria seca e fresca e teores totais por esta espécie.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido em duas etapas. Na primeira, foram coletadas folhas e vagens de várias plantas, de uma mesma população, sendo a distância entre plantas superior a 10m. O material vegetal fresco coletado foi pesado e levado para estufa de circulação forçada a temperatura de 60°C até peso constante para a determinação da matéria seca. Após, o material foi moído em moinho tipo Willey e foi realizada a extração dos flavonóides totais das folhas e das vagens, separadamente, conforme metodologia adaptada de Santos & Blatt (1998). Amostras de 0,25 g do material moído e 10 mL de metanol 70% foram incubados em tubos de centrífuga. Após 24 horas, foi transferida uma alíquota de 50 iL, para amostras de frutos, ou de 200 iL, para amostras de folhas, para tubos contendo 2 mL de metanol 70%, para análise de frutos, ou 1,8 mL, para amostras de folhas. Em seguida foi adicionado 133 iL de cloreto de alumínio (5g de cloreto de alumínio em 100 mL de metanol 70%) e 6,67 mL de metanol 70%, sendo os tubos agitados para homogeneização. Após 30 minutos de repouso, fez-se a leitura a 425 nm em espectrofotômetro UV/visível. A curva padrão foi preparada com concentrações crescentes de rutina, e expressos em % de flavonóides totais.

Análises de correlações de Pearson foram

feitas entre peso fresco de folhas e de vagens, peso fresco de folhas e peso seco de folhas e produção de flavonóides totais nas folhas e nas vagens.

A segunda etapa do experimento foi conduzida em solução nutritiva. Cultivou-se a fava d'anta (*D. mollis*), no período de 09 de Agosto a 15 de Novembro de 2002. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, correspondentes a 5 níveis de fósforo em solução nutritiva e iguais a 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 e 4 mg L⁻¹ e 6 repetições. Cada unidade experimental foi constituída por uma bandeja plástica, com capacidade de 6 dm³, onde foram cultivadas 6 plantas. As doses de fósforo foram definidas em ensaios anteriores, onde foi verificado que acima de 1,0 mg L⁻¹ de P não houve resposta das plantas em produção de flavonóides totais.

Sementes de fava d'anta, coletadas e selecionadas de uma única planta para diminuir a variação genética. Após escarificação e tratamento com hipoclorito de sódio a 20% em imersão por uma hora,

as sementes foram colocadas para germinar em câmara de germinação, usando como substrato areia autoclavada. A temperatura foi mantida a 25°C por 20 dias quando as plantas foram transferidas para a casa de vegetação para aclimatização, onde permaneceram por 38 dias. Após esse período as mudas foram transferidas para a solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada (TABELA 1), a ¼ da força iônica. Durante todo o período experimental, a solução foi aerada e o pH corrigido diariamente com hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹.

As plantas foram cultivadas por 95 dias, sendo a solução trocada a cada duas semanas. No final do experimento as plantas foram colhidas, e as folhas foram separadas e pesadas para a determinação da matéria fresca, matéria seca e extração de flavonóides totais conforme descrito para a etapa 1.

Todas as variáveis estudadas foram submetidas a análise de variância e os tratamentos, níveis de fósforo em solução nutritiva, comparados por análise de regressão.

TABELA 1. Concentração de nutrientes da solução nutritiva utilizada para o cultivo de fava d'anta.

Nutriente	Concentração (mg L ⁻¹)	Nutriente	Concentração (mg L ⁻¹)
N	56,0	Mn	0,337
P	Tratamento*	Zn	0,033
K	156,0	Cu	0,014
Ca	61,0	B	0,335
Mg	24,0	Mo	0,007
S	96,0	Fe	2,362

* 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 e 4,0 mg L⁻¹ de P

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson para as plantas estudadas em condição de campo. Verificou-se uma relação linear entre a produção de matéria fresca e seca de vagens e entre a concentração de flavonóides totais nas folhas e nas vagens. Por outro lado, não foi verificada correlação entre o pesos de folhas e vagens.

A correlação entre as concentrações de

flavonóides nas folhas com as das vagens, permite uma série de estudos sobre os fatores que afetam a produção desses compostos, uma vez que não há necessidade das vagens para a sua quantificação. Desta forma, considerando as condições em que foi conduzido este estudo, pode se inferir que, se os teores de flavonóides são alterados na folha, devido a algum fator edafoclimático, por exemplo, ele também será alterado na vagem, na mesma proporção.

TABELA 2 – Coeficientes de correlação de Person entre as variáveis vegetativas e com a produção de flavonóides totais da *Dimorphandra mollis*, nas folhas e nas vagens. (MFF – matéria fresca da folha; MSF – matéria seca da folha; MFV – matéria fresca da vagem; MSV – matéria seca da vagem; FF – flavonóides nas folhas e; FV – flavonóides nas vagens).

	MFF	MSF	MFV	MSV	FF	FV
MFF	1,00**	0,96**	0,10ns	0,24ns	0,43ns	0,12ns
MSF		1,00**	0,02ns	0,02ns	0,54ns	0,40ns
MFV			1,00**	0,99**	0,30ns	-0,59ns
MSV				1,00**	-0,21ns	-0,44ns
FF					1,00**	0,74**
FV						1,00**

**, * e ns, significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente, pelo teste de t.

Esta constatação permitiu a realização da segunda etapa do presente trabalho, onde se estudou a influência de níveis de fósforo em solução nutritiva, sobre a produção de flavonóides nas folhas da fava d'anta.

À medida que se aumentou o nível de fósforo na solução nutritiva, a produção de matéria seca total das plantas de fava d'anta diminuiu linearmente (Figura 1), embora não tenham apresentado sintomas visuais de deficiência de fósforo ou de outros nutrientes. A produção no nível mais baixo de P foi 43% superior a aquela do nível mais elevado de P na solução nutritiva.

O último nível testado foi de 4 mg/L de fósforo. Este nível é inferior a aquele originalmente sugerido por Hoagland & Arnon (1950). Uma explicação para esta redução de produção de matéria seca com o aumento dos níveis de fósforo é de que a fava d'anta é uma planta típica da região dos cerrados. Neste bioma, os solos são pobres em nutrientes, sendo o fósforo e o nitrogênio os nutrientes em menor disponibilidade (Haridasan, 2000). Desta forma, as plantas de favela seriam altamente adaptadas às baixas concentrações de fósforo no meio e, em concentrações mais elevadas os fosfatos poderiam interagir com outros nutrientes.

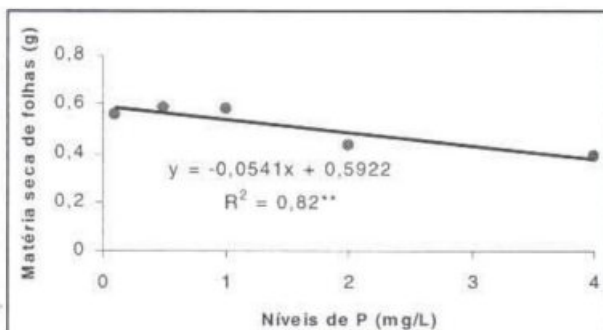


FIGURA 1. Produção de matéria seca de folha de fava d'anta em função dos níveis de fósforo em solução nutritiva.

Quanto à produção de flavonóides totais em folhas, esta variou de modo quadrático em função dos níveis de fósforo na solução nutritiva (Figura 2). Verificou-se uma maior produção, 0,76%, no nível menor de fósforo, 0,1 mg/L, e, a menor produção, 0,63%, no nível correspondente a 2,35 mg/L de fósforo, ou seja, a maior produção foi 20% superior a menor, resultado que pode ser significativo na indústria.

Vários trabalhos corroboram com os resultados do presente estudo, mostrando que a menor disponibilidade de nutrientes, em níveis que não comprometam o metabolismo das plantas, estimulam a produção de metabólitos secundários (Franz, 1983; Corrêa Jr, 1994).

Substituindo os níveis de P correspondentes ao máximo e ao mínimo teores de flavonóides totais

encontrados, na equação que relaciona a produção de matéria seca de folha em função dos níveis de P estudados (Figura 1), estima-se a produção de matéria seca de folhas nessas doses. Na dose de P correspondente ao máximo teor de flavonóides totais, a produção de matéria seca foi de 0,54 gramas, enquanto que, naquela correspondente ao teor mínimo, a matéria seca de folhas foi de 0,47 gramas. Desse modo, além das plantas apresentarem um maior teor de flavonóides totais no nível mais baixo de P estudado, também tem uma maior produção de matéria seca de folhas.

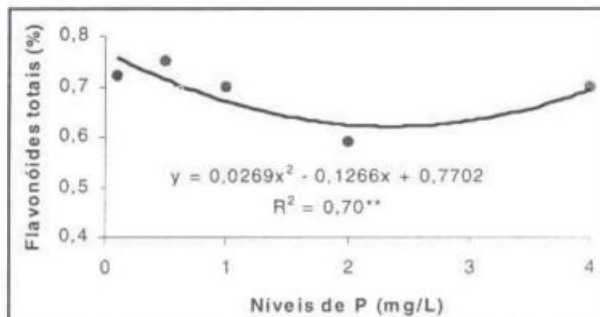


FIGURA 2. Produção de flavonóides totais em folhas da fava d'anta em função dos níveis de fósforo em solução nutritiva.

CONCLUSÃO

Existe correlação positiva entre a produção de flavonóides totais entre as vagens e folhas de fava d'anta, porém não existem correlações entre as produções de matéria fresca e seca entre esses dois órgãos.

Em condições de menores disponibilidade de fósforo no meio, sem apresentação de sintomas visuais de deficiência desse nutriente, ocorre maiores teores de flavonóides totais nas folhas de fava d'anta.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BORELLA, J. C., FONTOURA, A., MENEZES JUNIOR, A., et al.. Influência da adubação mineral (N-P-K) e sazonalidade do rendimento e teor de flavonoides em indivíduos masculinos de *Baccharis trimera* Less. (Asteraceae) – carqueja. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 4, n. 1, p. 99-102, 2001.
- CASTRO, H. G., FERREIRA, F. A. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: carqueja** (*Baccharis genistelloides*). Viçosa: UFV, 2000. 102p.
- CASTRO, H. G., FERREIRA, F. A., SILVA, D. J. H., et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabolismo secundário**. Viçosa: UFV, 2001. 104p.
- CORREA JÚNIOR, C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Curitiba: EMATER-PR, 1991. 162 p.

- FRANZ, C.H. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants **Acta Horticulturae: Medicinal and Spice Plants**, v. 132, p. 203-15, 1983.
- HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n.1, p. 54-64, 2000.
- HOAGLAND, D.R., ARNON, D.I. **The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil**. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. (Circular 347).
- MANTHEY, J. A., GROHMANN, K., BERHOW, M. A., et al. Changes in citrus leaf flavonoid concentrations resulting from blight-induced zinc-deficiency. **Plant Physiology Biochemical**. v. 38, n. 4, p. 333-43, 2000.
- MING, L.C. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 215-30, 1994.
- OLIVEIRA, L.O., MARTINS, E.R. **O desafio das plantas medicinais brasileiras: I - o caso da poaia (*Cephaelis ipecacuanha*)**. Campos dos Goytacazes: UENF-FENORTE, 1998. 73p.
- QUIAO, Y. S., ZHANG, Z., FANG, J. G., et al. Effects of nitrogen, phosphorus and potassium on leaf flavonoid content and vegetative growth of *Ginkgo biloba* L. **Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology**. v. 28, n. 6, p. 8-11, 2001
- ROCHA, R.C., TEIXEIRA, W. G., SENA, J. S. P. Aplicação de corretivos e fertilizantes no plantio de fava-d'anta (*Dimorphandra* spp.). Efeito de doses de calcário. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 22, 1996, Manaus. **Resumo...** Manaus: Ed. Universidade do Amazonas; 1996b. p.134.
- ROCHA, R.C., TEIXEIRA, W. G. & SENA, J. S. P. Aplicação de corretivos e fertilizantes no plantio de fava-d'anta (*Dimorphandra* spp.). Efeito de doses de fósforo. . In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 22, 1996, Manaus. **Resumo...** Manaus: Ed. Universidade do Amazonas; 1996a. p.136.
- SANTOS, M.D.; BLATT, C.T.T. Teor de flavonóides totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. De mata e cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 2, p. 1-9, 1998.