

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917

## Densidade e idade de *Phyllanthus amarus* - genótipo UNICAMP/CPQBA -14 na produtividade de filantina

Chrystian I. Maia-Almeida<sup>1</sup>; Maria Izabela Ferreira<sup>1</sup>; Márcia O. M. Marques<sup>2</sup>; Pedro M. Magalhães<sup>3</sup>; Shrirlei Scramin<sup>4</sup>; Sônia Cláudia N. Queiroz<sup>4</sup>; Lin Chau Ming<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> UNESP-Faculdade de Ciências Agrônomicas-Departamento de Produção Vegetal-Setor Horticultura-Rua José Barbosa de Barros,1780, Botucatu-SP, CEP 18610-307, C.P. 237; <sup>2</sup>Instituto Agronômico de Campinas-Fazenda Santa Elisa- Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais-Laboratório de Produtos Naturais, Av.Theodureto de Almeida Camargo, 1500, B. Vila Nova, Campinas, CEP 13.075-630; <sup>3</sup> Universidade Estadual de Campinas-Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas-Divisão de Agrotecnologia- Rua Alexandre Cazelatto, 999,Vila Betel, Paulínia – SP, CEP - 13081-970, C.P. 6171; <sup>4</sup> EMBRAPA Meio Ambiente- Laboratório de Análise de Resíduos Químicos e de Agrotóxicos-Rodovia SP 340,Km 127,5, Jaguariúna-SP, CEP:13820-000, C.P. 69 - \* [iezdbr@yahoo.com.br](mailto:iezdbr@yahoo.com.br) ; [iza\\_bio@yahoo.com.br](mailto:iza_bio@yahoo.com.br); [mortiz@iac.sp.gov.br](mailto:mortiz@iac.sp.gov.br); [pedro@cpqba.unicamp.br](mailto:pedro@cpqba.unicamp.br); [scramin@cnpma.embrapa.br](mailto:scramin@cnpma.embrapa.br); [sonia@cnpma.embrapa.br](mailto:sonia@cnpma.embrapa.br); [linming@fca.unesp.br](mailto:linming@fca.unesp.br)

### RESUMO

Avaliou-se o efeito da densidade de plantio e da idade de *Phyllanthus amarus* CPQBA-14, sobre o teor e produtividade de filantina. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 4 x 6, com cinco repetições, envolvendo 4 tratamentos de densidade de plantio (400.000 pl ha<sup>-1</sup>; 200.000 pl ha<sup>-1</sup>; 100.000 pl ha<sup>-1</sup> e 66.667 pl ha<sup>-1</sup>) com 6 colheitas (30, 45, 60, 75, 90 e 105 dias após o transplante (DAT)). Os dados foram submetidos a Análise de Variâncias e Regressão (P > 0.001). Para o teor de Filantina, foram observados efeitos significativos e independentes dos tratamentos de idade da planta na colheita e densidade de plantio. O teor de filantina aumentou linearmente com a idade da planta, atingindo o máximo aos 105 DAT, com

teor de 11,52 g Kg<sup>-1</sup>. O adensamento populacional estimado que proporcionou máximo teor de filantina (8.66 g kg<sup>-1</sup>) foi de 299.860 pl ha<sup>-1</sup>. A produtividade de filantina apresentou interação significativa entre densidade de plantio e idade da planta na colheita. Observou-se que ao longo do crescimento da planta, os tratamentos com 200 e 400.000 pl ha<sup>-1</sup> apresentaram as maiores produtividades de filantina (39,3 e 37,8 kg ha<sup>-1</sup>) aos 97,12 e 95,17 DAT, respectivamente. Conclui-se que o espaçamento apropriado para o melhor arranjo espacial de cultivo é de 299.860 pl ha<sup>-1</sup> para as produtividades de 3974,19 Kg (massa de matéria seca foliar) x 0,00866 kg (teor de filantina) = 34,416 kg ha<sup>-1</sup> de filantina, com colheita programada aos 97 DAT.

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917

**PALAVRAS-CHAVE:** quebra-pedra, cultivo de plantas medicinais, ecofisiologia, qualidade fitoquímica.

#### ABSTRACT

#### Density of planting and age of *Phyllanthus amarus* – genotype UNICAMP/CPQBA-14 on the productivity of phyllanthin

The effect of planting density and age of *Phyllanthus amarus*- genotype CPQBA-14, on the content and productivity of phyllanthin were evaluated. The experimental design was randomized blocks in factorial scheme 4 x 6, with five replicates, consisting of 4 treatments of planting density (400,000 pl ha<sup>-1</sup>; 200,000 pl ha<sup>-1</sup>; 100,000 pl ha<sup>-1</sup> and 66667.68 pl ha<sup>-1</sup>) with six ages of plants (30, 45, 60, 75, 90 and 105 days after transplanting (DAT)). Data were subjected to analysis of variance and regression ( $P > 0.005$ ). For phyllanthin content independent and significant effects of harvest and planting density were observed. The phyllanthin contents increased with plant age, peaking at 105 DAT, with a content of

11.52 g kg<sup>-1</sup>. The estimated population density that provided the high phyllanthin contents (8.66 g kg<sup>-1</sup>) was at 299,860 pl ha<sup>-1</sup>. The productivity of phyllanthin showed significant interaction between planting density and plants ages. It was observed during the plant growth, the treatments with 200 and 400,000 pl ha<sup>-1</sup> had the highest yield of phyllanthin (39.3 and 37.8 kg ha<sup>-1</sup>) with 95.17 and 97.12 DAT, respectively. We conclude that the proper spacing for best spatial arrangement of the cultivation is 299.860 pl ha<sup>-1</sup> for the yield of 3974.19 kg (dry weight leaf) x 0.00866 kg (phyllanthin contents) = 34.416 kg ha<sup>-1</sup> of phyllanthin with harvest scheduled at 97 DAT.

Keywords: *Phyllanthus amarus*, cultivation of medicinal plants, ecofisiologia, phytochemical quality.

*Phyllanthus amarus* é popularmente conhecido no Brasil como quebra-pedra sendo utilizado tradicionalmente na medicina popular para problemas de saúde associada ao aparelho urinário. As lignanas filantina e hipofilantina, encontradas nestas espécies são apontadas como responsáveis pelo efeito antiviral contra hepatite B e Aids (Syamsundar

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917

et al.,1985). Por demanda de indústrias farmacêuticas, a pesquisa agrônômica do gênero levou a avaliação e seleção de genótipos, pelo Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (CPQBA-UNICAMP). Sendo que, de forma independente, também pesquisadores da Universidade Federal de Lavras realizaram estudos sobre nutrição mineral. Atualmente poucos avanços agrônômicos para esta espécie foram alcançados e, por conseguinte, não há informações sobre sua ecofisiologia. Na área de plantas medicinais, vários trabalhos relatam a interação entre a idade da planta e os fatores ambientais como determinantes da produção de fitomassa e de metabólitos secundários. O conhecimento do comportamento ecofisiológico das plantas em sistemas de cultivo sob efeito da população ideal de plantas (arranjo espacial) e idade de corte (temporal) tornam-se componentes básicos dos aspectos econômicos e fitotécnicos que subsidiam tomadas de decisão e análise do potencial produtivo e qualitativo da espécie alvo, neste caso, *P. amarus*. Portanto, o objetivo do presente estudo foi determinar para *P. amarus* Schumach. & Thonn.- genótipo CPQBA-14 a melhor densidade de plantio e idade das plantas na colheita para o máximo teor e produtividade de filantina..

## **MATERIAL E METODOS**

A experimentação agrícola e preparo de materiais foram realizadas no campo experimental do CPQBA-UNICAMP em Latossolo vermelho. Para realização dos experimentos elevou-se a V% para 60. Para determinação das adubações considerou-se os teores de nutrientes P, K, Ca e Mg, B, Zn, Cu, Mn para nível médio de fertilidade segundo classificação proposta por Raij et al. (2001), em análise conjunta de tomada de decisão associada à resultados experimentais preliminares do CPQBA/UNICAMP para o gênero e a resultados obtidos em revisão bibliográfica. Realizaram-se adubações básicas na linha de plantio com 30, 150, 75 e 3,8 kg ha<sup>-1</sup> de N, P, K e Zn, respectivamente. A fonte utilizada foi o formulado 4-20-10 + 0,5 de Zn na dose de 757 kg ha<sup>-1</sup>. As mudas foram produzidas a partir de sementes do genótipo CPQBA/UNICAMP-14 em viveiro coberto por sombrite 50% e sob irrigação por aspersão automática. Para tal, utilizou-se tubetes de plástico com capacidade de 50 g de substrato cada. O substrato utilizado foi produzido a partir da mistura do substrato comercial G-III® da Gioplantas com 125 g do adubo N-P-K de liberação lenta PG-MIX® 14-16-18 para 25 kg de G-III®. O transplântio foi realizado quando as plantas

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917

atingiram altura média de 18 cm aos 45 dias após a semeadura. Os dados climáticos foram coletados e fornecidos pelo Centro de Ensino e Pesquisa em Agricultura - CEPAGRI/UNICAMP centro de referência climática para a unidade CPQBA-UNICAMP. Em cada colheita avaliou-se teor e produtividade de filantina nas folhas. Para análise da produção de massa de matéria seca e fitoquímica as amostras foram secas a 40°C em estufa com fluxo de ar forçado. Para obtenção do extrato metanólico, folhas secas de *P. amarus* foram trituradas em moinho Wiley. Para a preparação do extrato foram utilizadas 1 g de matéria seca foliar finamente moída e 25 mL de metanol P.A (Synth). A mistura foi mantida sob agitação contínua em mesa agitadora a 150 rpm por duas horas a temperatura ambiente. Após este período a mistura foi filtrada em papel filtro e o solvente eliminado a pressão reduzida em evaporador rotativo e os extratos acondicionados e frascos de vidro âmbar. Após esta etapa, as amostras foram acondicionadas por 72 horas em dessecador sob vácuo contendo sílica gel. Para a quantificação da filantina empregou-se cromatógrafo líquido de alta eficiência (Agilent Technologies, 1100 series), constituído de bomba quartenária, injetor automático e detector de absorção no UV/ visível e coluna cromatográfica Inertsil ODS-3 (250nm x 4.6 I.D., GL Sciences Inc. Tokyo, Japan). As condições cromatográficas foram: fase móvel acetonitrila, água (55:45 v/v), eluição isocrática, fluxo de 1mL/min em temperatura ambiente (25°C) e comprimento de onda de 230 nm definidos em pretestes e corroborados por resultados de Murugaiyah e Chan (2007). O volume de injeção da amostra foi de 20 µL. O tempo médio de retenção da filantina foi de 12,9 minutos. As análises das amostras foram realizadas em três etapas de injeção, para tanto, foi confeccionada uma nova curva de calibração para cada, minimizando possíveis variações analíticas. Conforme copia de relatórios analíticos e cromatogramas do padrão e de uma amostra (nº115). No momento da quantificação da filantina, uma alíquota do extrato foi suspensa com metanol e acetato de etila. A curva de calibração de filantina foi feita com padrão comercial (98%, Cromadex Inc. Miami- Florida- USA) nas concentrações: 50, 25, 15, 10, 5 e 1 µg/mL.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso sob esquema fatorial 4 x 6 com cinco repetições em parcelas subdivididas no tempo para o tratamento idade. Onde os tratamentos foram: 4 densidade de plantio (0,025 m<sup>2</sup> pl<sup>-1</sup> com 400.000 pl ha<sup>-1</sup>; 0,05 m<sup>2</sup> pl<sup>-1</sup> com 200.000 pl ha<sup>-1</sup>; 0,1 m<sup>2</sup> pl<sup>-1</sup> com 100.000 pl ha<sup>-1</sup> e 0,15 m<sup>2</sup> pl<sup>-1</sup> com 66.667,68

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917

pl ha<sup>-1</sup>) de forma que os espaçamentos entre plantas foram (0,05; 0,10; 0,20; 0,30 m x 0,5 m entre linha), respectivamente, correspondentes ao espaço planta. Os subtratamentos foram 6 épocas de colheita (30; 45; 60; 75; 90 e 105 dias após o transplântio (DAT)). Portanto, em esquema fatorial totalizando 24 tratamentos sendo os subtratamentos em parcelas subdivididas no tempo. Os resultados foram submetidos às análises de variância e regressão polinomial.

Todas as análises foram realizadas a 5 % de probabilidade. Os softwares utilizados foram: Sistema de Análise Estatística e Genética, "SAEG" V.5.1 UFV-1995; SISVAR-DEX-UFLA-CNPq- Versão 4.3 (Build 45), Direitos autorais do software reservados à Daniel Furtado Ferreira (1999-2003); Mathematics modeling and simulation system (Maple<sup>TM</sup> V.11) MAPLESOFT / Waterloo Maple Inc. – 2007 e o pacote estatístico do Excel da Microsoft Inc.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o teor de Filantina, foram observados efeitos significativos e independentes dos tratamentos de idade das plantas nas colheitas (Figura 01) e densidade de plantio (Figura 02). O teor de filantina aumentou linearmente com a idade da planta, atingindo o máximo aos 105 DAT, com teor de 11,52 g Kg<sup>-1</sup> de massa de matéria seca foliar em função do tempo, ou seja 1,152 % (Figura 01). Farooqi & Sreeramu (2004) detectaram para *P. amarus* (genótipo indiano Navyakrit) menor rendimento médio de filantina, 0,4 a 0,5 % (4 a 5 g/Kg<sup>-1</sup>), aos 90 dias após transplântio. Tal fato possivelmente seja função da quantidade de tecidos fisiologicamente adultos com maior potencial de produção desta molécula. De acordo com Barbosa Filho (1999), o teor de lignanas é função direta da idade da planta, sendo menos susceptível a fatores ambientais. Em complemento, resultados observados por Salomé (2007) e Teramoto et al. (2008) mostraram ser variável tal afirmação. Esses autores observaram que o estresse hídrico elevou em mais de 100% o teor de filantina no genótipo CPQBA-14 de *P. amarus*, devido à participação deste metabólito no mecanismo de proteção contra a peroxidação lipídica das células do tecido foliar.

O teor de filantina sob efeito da densidade de plantio, respondeu isoladamente e significativamente com regressão quadrática com o aumento da densidade de plantio. O adensamento populacional estimado que proporcionou o máximo teor de filantina (8.66 g kg<sup>-1</sup>) foi de 299.860 pl ha<sup>-1</sup> (Figura 02).

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917

A produtividade de filantina apresentou interação significativa entre densidade de plantio e época de colheita. Observou-se que ao longo do crescimento da planta, os tratamentos com 200 e 400.000 pl ha<sup>-1</sup> apresentaram as maiores produtividades (39,3 e 37,8 kg ha<sup>-1</sup>) de filantina, respectivamente, aos 97,12 e 95,17 DAT (Figura 03).

Com base nos resultados obtidos pode-se afirmar que o tratamento de densidade de plantio não afetou de forma negativa a fisiologia da planta, lembrando que Salomé (2007) e Teramoto et al. (2008) relatam que a biossíntese de filantina e outros fenóis estão relacionada ao estresse oxidativo, aumentando seu teor em função do aumento da peroxidação lipídica, por exemplo. Portanto, no presente estudo a densidade de plantio pode não ter induzido os estresses causadores de peroxidação lipídica.

Portanto, conclui-se que o espaçamento apropriado para o melhor arranjo espacial de cultivo é de 6.66976 cm entre plantas por 50 cm entre linhas, totalizando 299.860 pl ha<sup>-1</sup> com respectivo espaço/planta de 0,0333488 m<sup>2</sup> pl<sup>-1</sup> para as produtividades de 3974,19 Kg (massa de matéria seca foliar) \* 0.00866 kg (teor de filantina) = 34.416 kg ha<sup>-1</sup> de filantina, com colheita programada aos 97 DAT.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA FILHO, J.M. 1999 Lignanas, neolignanas e seus análogos. In: SIMÕES, C. M.O; SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS / UFSC, 6<sup>o</sup>ed., p. 557-575

FAROOQI, A.; SREERAMU, B.S. 2004. **Cultivation of medicinal and aromatic crop**. Hyderabad, Índia: Universities Press, 647p.

MURUGAIYAH, V.; CHAN, K.T. 2007. Determination of four lignans in *Phyllanthus niruri* L. by a simple high-performance liquid chromatography method with fluorescence detection. **Journal of Chromatography Archives** 1154: 198–204.

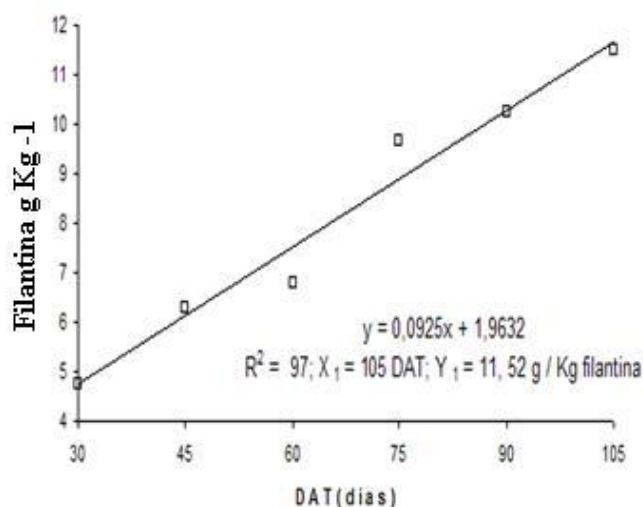
RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. 2001. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 285p.

SALOMÉ, J.R. 2007. **Análise fitoquímica dos princípios ativos, filantina, hipofilantina e nirantina da quebra-pedra (*Phyllanthus amarus* Shumach & Thonn) sob condições de deficit hídrico**. Piracicaba: USP – ESALQ. 93p. (Tese mestrado)

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917

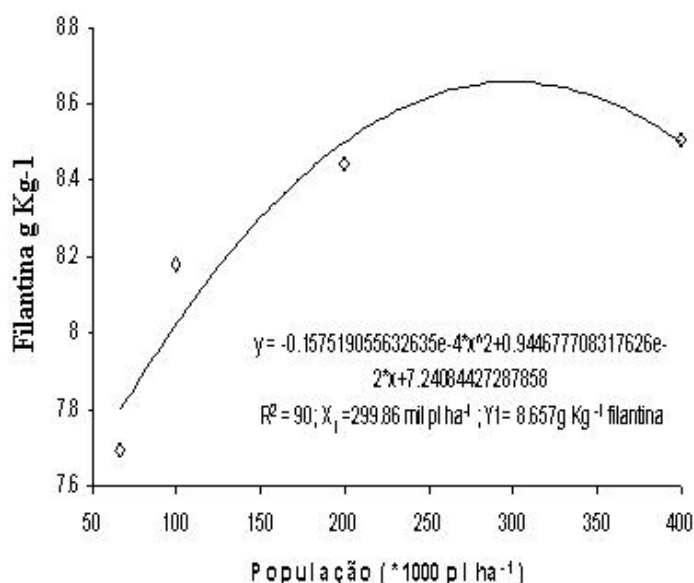
SYAMSUNDAR, K. V.; SINGH, B.; THAKUR, R. S.; HUSSAIN, A.; KISO, A.; HIKINO, H. 1985. Antiepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* **Herb. Journal of Ethnopharmacology** 14: 41-44.

TERAMOTO, J.R.S.; OLIVEIRA, R.F.; SANTOS, S.; REHDER, V. L. G. 2008. Avaliação dos teores das lignanas filantina, hipofilantina e niratina em quebra-pedra (*Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn.) sob diferentes condições de deficiência hídrica. Botucatu, Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 10: 4 67-75.

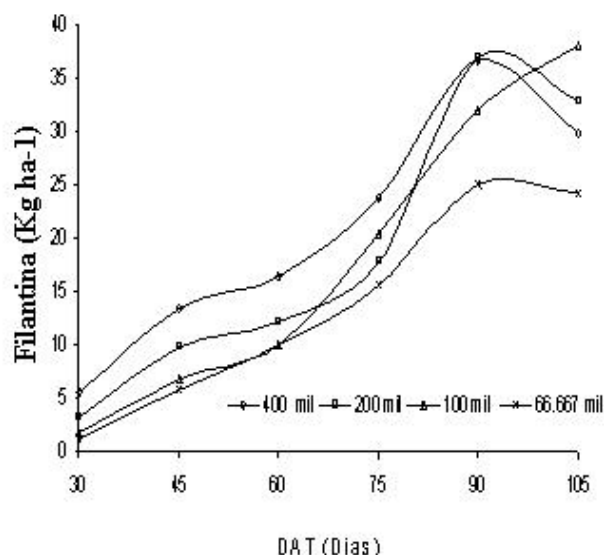
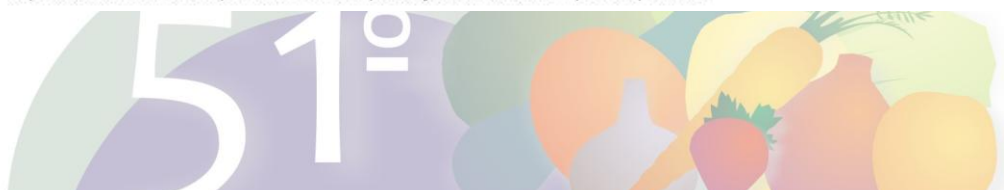


**Figura 01.** Teor médio de filantina na massa seca foliar em função da idade das plantas nas colheitas (DAT) de *P. amarus* -genótipo CPQBA-14. Equação significativa pelo teste F a  $P < 0,05$ . (Phyllanthin average content in dry weight of leaves as affected by the ages of plants (DAT) of *P. amarus*- genotype CPQBA-14. Significant equation by F test at  $P < 0.05$ ), Paulínia-SP, CPQBA-UNICAMP, 2006/2007

MAIA-ALMEIDA CI; FERREIRA MI; MARQUES MOM; MAGALHÃES PM; SCRAMIM S; QUEIROS SCN; MING LC. 2011 Densidade e idade de colheita na produtividade de filantina em *Phyllanthus amarus* - UNICAMP/CPQBA-14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 51. Anais... Viçosa: ABH.S4910-S4917



**Figura 02.** Teor médio de filantina na massa de matéria seca foliar em função da densidade de plantio/população (\* 1000 pl ha<sup>-1</sup>) de *P. amarus* – genótipo CPQBA-14. Equação significativa pelo teste F a P < 0,05. (Phyllanthin average content in the dry weight of leaves as affected by plant density / population (\* 1000 pl ha<sup>-1</sup>) of *P. amarus*- genotype CPQBA-14. Significant equation by F test at P <0.05). Paulínia-SP, CPQBA-UNICAMP, 2006/2007



**Figura 03.** Produtividade de filantina de folhas de *P. amarus* – genótipo CPQBA-14 para cada densidade de plantio (PL ha<sup>-1</sup>) em função da idade das plantas por colheita (DAT). Equações significativas pelo teste F a P < 0,05. (Productivity phyllanthin leaves of *P. amarus*-CPQBA-14 for each planting density (pl ha<sup>-1</sup>) as affected by age of plants (DAT). Significant equations by F test at P <0.05) Paulínia-SP, CPQBA-UNICAMP, 2006/2007.