



## **Análise exploratória e discriminatória do perfil fitoquímico da parte aérea das espécies *Secale cereale* L. *Avena strigosa* L. e *Raphanus sativus* L. cultivadas em sistema plantio direto agroecológico**

*Exploratory and discriminatory analysis of the phytochemical profile of the aerial part of the species *Secale cereale* L. *Avena strigosa* L. and *Raphanus sativus* L. grown under an agroecological no-tillage system*

SOUZA, Monique<sup>1</sup>; KUHNEN, Shirley<sup>2</sup>; MÜLLER JÚNIOR, Vilmar<sup>3</sup>;  
LIMA, Andria Paula<sup>4</sup>; KURTZ, Claudinei<sup>5</sup>; COMIN, Jucinei José<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doutorando em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), monique\_souzaaa@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Professor Adjunto, UFSC; <sup>3</sup>Doutorando em Eng. Ambiental, UFSC; <sup>4</sup>Estudante Agronomia, UFSC; <sup>5</sup>Pesquisador, Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de SC (EPAGRI); <sup>6</sup>Professor Titular, UFSC

**Tema Gerador:** Manejo de Agroecossistemas e Agricultura Orgânica

### **Resumo**

A quimiometria e a espectrometria auxiliam na caracterização e distinção de amostras de tecido vegetal quanto ao perfil fitoquímico. O objetivo do estudo foi realizar a análise exploratória e discriminatória de dados obtidos via infravermelho próximo (NIR), com o uso da ferramenta R, com ênfase na discriminação dos perfis fenólicos da parte aérea das espécies de plantas de cobertura. Foram coletadas amostras das espécies *Raphanus sativus* L., *Secale cereale* L. aos 60, 80 e 100 dias após a semeadura das plantas e, aos 15 e 30 dias após o seu acamamento, em experimento com sistema de plantio direto agroecológico de cebola implantado a campo, em Ituporanga, Santa Catarina. A espécie *Avena strigosa* L. foi coletada somente aos 100 dias após semeadura e 15 e 30 dias após o acamamento. Os dados foram submetidos à análise de componentes principais e agrupamento. Os perfis espectrais diferiram em relação às espécies de planta de cobertura utilizada no sistema de cultivo e menos em relação ao estágio fenológico das plantas e, se estas espécies foram cultivadas solteiras ou consorciadas. A análise exploratória discriminou a espécie *Raphanus sativus* L. das demais em relação ao perfil químico. Houve uma discriminação das amostras aos 15 dias, quando todas as espécies já tinham sido acamadas no campo em comparação aos outros tempos.

**Palavras-chave:** alelopatia; quimiometria, adubação verde, manejo do solo, reflectância difusa infravermelho próximo.

### **Abstract**

Chemometrics and spectrometry assist characterization and distinction of plant tissue samples as regards the phytochemical profile. The objective of this study was to perform exploratory and discriminatory analysis of data obtained by near infrared (NIR) using the R tool, with emphasis on phenolic profiles discrimination from cover plant species aerial part. Samples of *Raphanus sativus* L., *Secale cereale* L. species were collected at 60, 80 and 100 days after planting, and at 15 and 30 days after lodging, in an experiment with an agroecological no-tillage system in the city of Ituporanga, Santa Catarina. The species *Avena strigosa* L. was collected only at 100 days after sowing and 15 and 30 days after lodging. All data were submitted to principal component analysis and clustering. Spectral profiles differed in comparison to the cover crop species used in the cropping system and less in relation to the phenological stage of the plants,



and if these species were cultivated singly or consorciated. Exploratory analysis discriminated the species *Raphanus sativus* L. from the others in relation to the chemical profile. There was a discrimination of the samples at 15 days, when all species had already been rolled down in the field compared to other times.

**Keywords:** allelopathy; chemometrics; green manure; soil management, near-infrared diffuse reflectance.

## Introdução

As plantas de cobertura aveia (*Avena strigosa* L.), centeio (*Secale cereale* L.) e nabo-forageiro (*Raphanus sativus* L.) podem ser utilizadas em sistemas de cultivo para cobertura do solo, como Fonte de nutrientes e, também, como estratégia para o controle de plantas espontâneas (PATIL, 2007; ZANATTA et al., 2006). Em alguns estudos têm sido demonstrado que essas espécies ao longo do seu ciclo de cultivo podem produzir diferentes compostos que possuem efeito inibitório sobre o crescimento de outras plantas (JACOB e FLECK, 2000; COPAJA et al., 2006) Dentre esses, estão os compostos fenólicos, que estão envolvidos nos mecanismos de defesa das plantas e na atividade alelopática (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Existem técnicas instrumentais de análise de compostos químicos mais rápidas e não destrutivas das amostras, entretanto, essas Análises geram uma grande quantidade de dados, exigindo assim, a utilização de técnicas matemáticas, como a quimiometria, para auxiliar na interpretação e detectar possíveis semelhanças em um conjunto amostral (SABIR et al., 2017). Examinar um conjunto de dados pode auxiliar na compreensão das relações existentes entre as variáveis estudadas, como as diferenças entre os perfis químicos das espécies, entre o tempo de cultivo e o manejo adotado.

O objetivo do estudo foi realizar uma análise exploratória e discriminatória de dados obtidos por infravermelho próximo (NIR), com o uso da ferramenta R, com ênfase na discriminação dos perfis fenólicos da parte aérea das espécies *Secale cereale* L., *Avena strigosa* L. e *Raphanus sativus* L.

## Metodologia

Foram realizadas coletas da parte aérea das espécies centeio, nabo-forageiro e aveia-preta em experimento implantado a campo em sistema plantio direto agroecológico de cebola desde 2009, na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), no município de Ituporanga, região do Alto Vale do Itajaí, Santa Catarina (Latitude 27° 24' 52", Longitude 49° 36' 9" e altitude de 475 m).



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO  
X CONGRESSO BRASILEIRO  
V SEMINÁRIO DO DF E ENTORNO  
**12-15 SETEMBRO 2017**  
**BRASÍLIA- DF, BRASIL**

**Tema Gerador 9**

Manejo de Agroecossistemas  
e Agricultura Orgânica



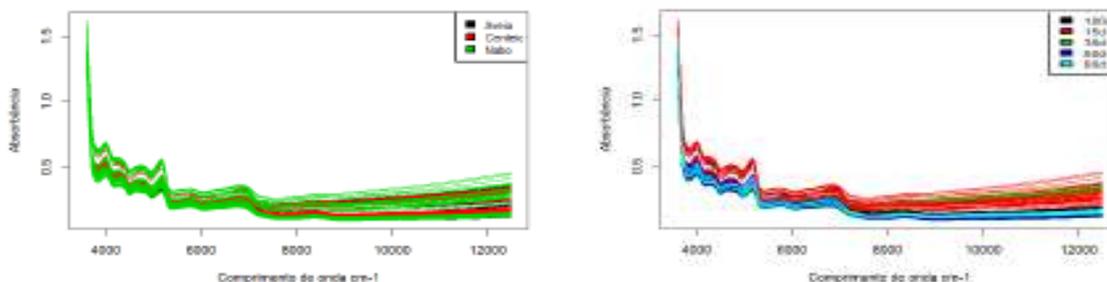
O centeio e o nabo-forageiro solteiros e consorciados foram coletados aos 60, 80 e 100 dias após a semeadura (DAS) das plantas de cobertura de inverno e, após o seu acamamento (DAA), aos 15 e 30 dias, o que corresponde aos dias após o plantio das mudas de cebola. A espécie aveia-preta foi coletada somente aos 100 DAS e aos 15 e 30 DAA. Foram coletadas 3 subamostras aleatoriamente de cada parcela para compor uma única amostra composta. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 3 repetições. As amostras foram homogeneizadas, identificadas e acondicionadas em tubos do tipo falcon (50 mL) e transportadas em gelo seco para o laboratório. As amostras foram liofilizadas (EDWARDS Micro-Modulyo) até total remoção da umidade a  $-54^{\circ}\text{C}$ , trituradas em moinho, peneiradas (0,42 mm) e acondicionadas em tubos falcons (50 mL) e conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise.

Os espectros via NIR foram obtidos das amostras sólidas, em espectrômetro FT-NIR MPA Bruker, em triplicata na região espectral 3600 a 12500  $\text{cm}^{-1}$ . Foram realizadas 64 varreduras para cada amostra sólida, com resolução de 16  $\text{cm}^{-1}$ .

Os dados obtidos dos perfis espectrais foram submetidos à análise não-supervisionada de componentes principais (PCAs), análise de agrupamentos a partir de matrizes de correlação, utilizando o software R® (R Core Team, 2015). Os scripts foram escritos em linguagem R (v. 3.3.1) e disponíveis no pacote specmine (COSTA, MARASCHIN e ROCHA, 2015).

## **Resultados e Discussão**

Os espectros de reflectância do infravermelho próximo (3600 a 12500  $\text{cm}^{-1}$ ) dos extratos brutos da parte aérea das espécies centeio, aveia e nabo-forageiro aos 60, 80 e 100 DAS aos 15 e 30 DAA revelou perfis químicos similares entre as amostras e maiores valores de absorbância na região em torno de 3700 a 8700  $\text{cm}^{-1}$  (Figuras 1A e 1B). As pequenas discrepâncias entre os espectros indicam, previamente, uma distinção nos perfis da espécie nabo-forageiro com relação às demais espécies (Figura 1A) e, em relação às épocas, houve uma distinção, principalmente aos 15 dias após o acamamento das plantas (Figura 1B).

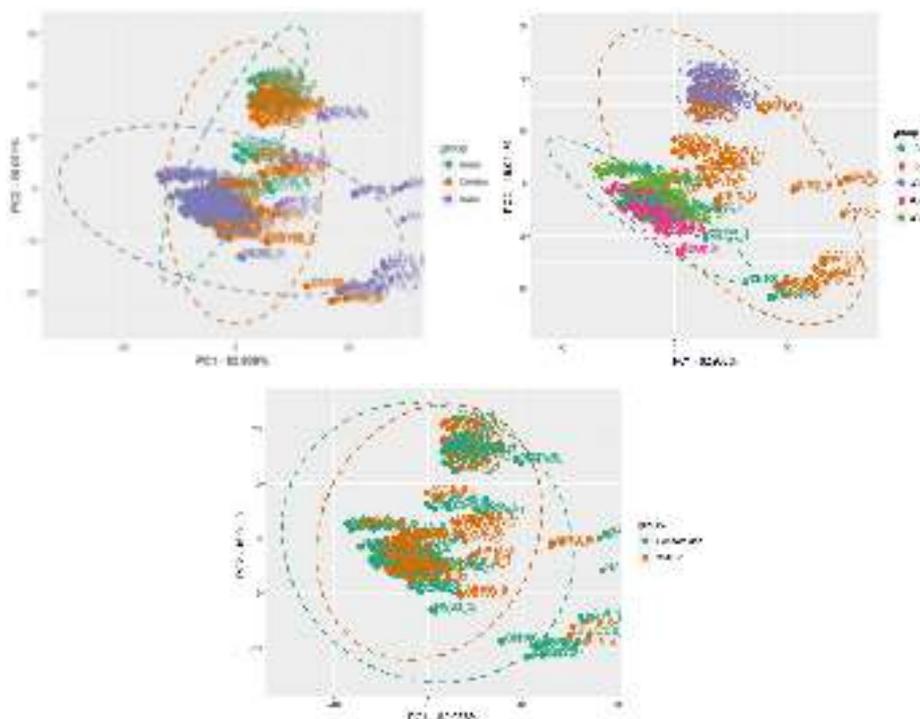


**Figura 1.** Espectros de reflectância na região do infravermelho (3600 a 12500  $\text{cm}^{-1}$ ) da parte aérea de espécies das espécies *Avena strigosa* L., *Secale cereale* L. e *Raphanus sativus* L. (A) e perfil espectral nos diferentes tempos de avaliação (B).

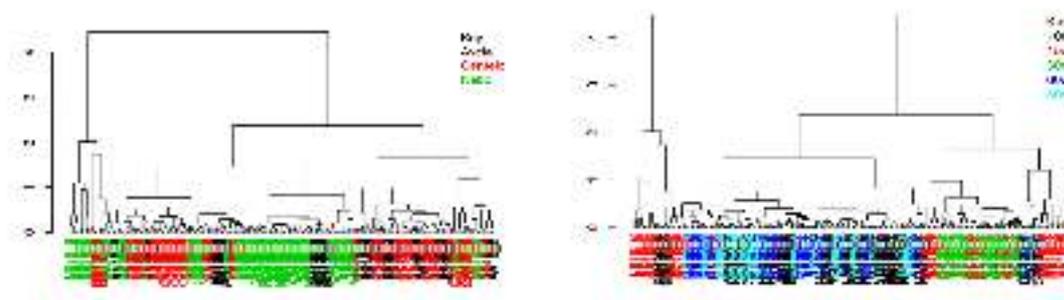
Após a análise preliminar utilizando toda a região do espectro, na região com maiores absorvâncias, procedeu-se a distribuição fatorial dos dados com base na análise de PCA, para detectar possíveis diferenças entre as espécies e entre as épocas de avaliação. A aplicação da PCA à matriz dos espectros resultou nos valores apresentados nas Figuras 2A, 2B e 2C.

Os eixos PC1 e PC2 explicaram, em média, 83% e 16% da variabilidade dos dados, respectivamente. Observa-se com a análise de PCA, juntamente com a análise cluster hierárquico (Figuras 3A e 3B), que ocorreu a separação da espécie nabo-forrageiro em relação às gramíneas aveia-preta e centeio, quando analisadas na região de 3757 a 8663  $\text{cm}^{-1}$ . Nessa região do espectro foi detectado as maiores diferenças nos perfis das espécies. O estudo realizado não permite definir exatamente quais classes de compostos são as responsáveis pela diferenciação, porém, os maiores picos de absorvância foram detectados na região entre 3500 a 5000  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 1), com combinações C-H e C-C, típicas da estrutura química dos compostos fenólicos e flavonoides (BURNS et al., 2001).

Em relação às épocas avaliadas, houve uma separação das espécies aos 15 e aos 30 DAA, diferindo das espécies avaliadas aos 60, 80 e 100 DAS (Figura 2B). Em relação ao agrupamento hierárquico entre as épocas avaliadas, também foi possível observar a separação das amostras avaliadas aos 15 e aos 30 DAA. A sobreposição das amostras entre as épocas de avaliação 60, 80 e 100 DAS, em PC2(-) (Figura 2B) aponta uma similaridade entre essas amostras quando analisadas via NIR, sugerindo que os perfis fitoquímicos das espécies centeio, nabo-forrageiro e aveia-preta, que se encontravam em estágio de desenvolvimento vegetativo e florescimento, podem ser mais semelhantes, quando comparados com os perfis obtidos após estas plantas serem acamadas.



**Figura 2.** Distribuição fatorial dos componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2) dos espectros de reflectância na região do infravermelho (3757 a 8663  $\text{cm}^{-1}$ ) das amostras sólidas, em relação às espécies de plantas de cobertura (A), aos tempos de avaliação (B) e ao sistema de cultivo (C).



**Figura 3.** Dendrograma dos espectros de reflectância obtido pela análise de cluster hierárquico utilizando distância euclidiana, em relação às espécies (A) e às épocas de coleta (B).

Além disso, esse resultado pode ter ocorrido devido às mudanças na composição química do Material vegetal após o acamamento (30 dias), quando se tem a degradação do Material vegetal e, provavelmente, a liberação dos compostos fenólicos. A espécie nabo-forrageiro, por apresentar uma relação C/N menor, em torno de 15, e maior taxa



de mineralização do material, é degradado nos 15 primeiros dias, conforme observado a campo por Martins et al. (2014) e Oliveira et al. (2016). Por outro lado, quando as amostras foram analisadas em relação ao sistema de cultivo, não foi possível observar a sua discriminação quando as espécies foram cultivadas solteiras e/ou consorciadas (Figura 2C).

## **Conclusões**

Os perfis espectrais diferiram em relação às espécies de planta de cobertura utilizada no sistema de cultivo e menos em relação ao estágio fenológico das espécies e, se estas forem cultivadas solteiras ou consorciadas.

Entre os tempos de avaliação, houve uma discriminação das amostras, sendo mais evidente aos 15 dias de avaliação, quando todas as espécies já tinham sido acamadas no campo em comparação aos estádios de desenvolvimento vegetativo e florescimento das espécies.

A análise exploratória dos espectros discriminou a espécie nabo-forrageiro das espécies aveia-preta e centeio em relação ao perfil fitoquímico, o que posteriormente pode ser aprofundado com uma análise cromatográfica, para determinar quais compostos fenólicos diferenciam estas espécies e quais possuem potencial alelopático.

## **Agradecimentos**

A CAPES e a FAPESC pela bolsa de doutorado e ao CNPq - Chamada N° 81/2013 – MCTI/MAPA/MDA/MEC/MPA/CNPq e Chamada Universal – MCTI/CNPq N° 14/2014 pelo auxílio financeiro para a condução do projeto.

## **Referências Bibliográficas**

- BURNS, J. et. al. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. *J. Agric. Food Chemistry*. Chicago: v.49, p. 5797-5808, 2001.
- COPAJA, S. V.; VILLARROEL, E.; BRAVO, H. R.; PIZARRO, L.; ARGANDONA, V. H. Hydroxamic Acids in *Secale cereale* L. and the Relationship with their Antifeedant and Allelopathic Properties. *Zeitschrift fur Naturforschung*, 61c, p. 670-676, 2006.
- COSTA, C; MARASCHIN, M; ROCHA, M (2015). *specmine: Metabolomics and Spectral Data Analysis and Mining*. R package version 1.0.
- JACOBI, U. S.; FLECK, N. G. Avaliação do potencial alelopático de genótipos de aveia no início do ciclo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 1, p. 11-19, jan. 2000.



VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO  
X CONGRESSO BRASILEIRO  
V SEMINÁRIO DO DF e ENTORNO  
**12-15 SETEMBRO 2017**  
**BRASÍLIA- DF, BRASIL**

**Tema Gerador 9**

Manejo de Agroecossistemas  
e Agricultura Orgânica



MARTINS, R. P.; COMIN, J. J.; GATIBONI, L. C.; SOARES, C. R. F.; COUTO, R. R.; BRUNETTO, G. Mineralização do nitrogênio de plantas de cobertura, solteiras e consorciadas, depositadas sobre um solo com histórico de cultivo de cebola. *Revista Ceres*, v. 61, p. 587-596, 2014.

OLIVEIRA, R. A.; BRUNETTO, G.; LOSS, A.; GATIBONI, L. C.; KURTZ, C.; MULLER, V. M.; LOVATO, P. E.; OLIVEIRA, B. S.; SOUZA, M.; COMIN, J. J. De-composição e liberação de nutrientes de plantas de cobertura e seus efeitos em atributos químicos do solo e produtividade da cebola. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, no prelo, 2016.

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).

SABIR, A.; RAFI, M.; DARUSMAN, L. K. Discrimination of red and white rice bran from Indonesia using HPLC fingerprint analysis combined with chemo-metrics. *Food Chemistry*, v. 221, p. 1717-1722, 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre (RS): ARTMED, 2009.

ZANATTA, J. F.; FIGUEREDO, S.; FONTANA, L. C.; PROCÓPIO, S. O. Interferência de plantas daninhas em culturas olerícolas. *Revista FZVA (Faculdade Zootecnia, Veterinária e Agronomia)*, v. 13, n. 2, p. 37-57, 2006.