

IDENTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS SECUNDÁRIAS PRESENTES EM LEGUMINOSAS UTILIZADAS COMO ADUBO VERDE¹

Alexandre Sylvio Vieira da Costa²
Gilberto Gastim Pessanha³
Mario Geraldo de Carvalho³
Raimundo Braz Filho³

1. INTRODUÇÃO

A identificação de substâncias micromoleculares em diferentes espécies de plantas tem contribuído para o desenvolvimento de áreas de estudos como a classificação sistemática das plantas, a quimiosistemática, ecologia, farmacologia etc. (12).

Segundo levantamento feito por SIMÃO (17), dentro da família das leguminosas, na tribo Crotalareae, na qual se encontra a *Crotalaria juncea*, o maior número de estruturas encontrado foi de 69 alcalóides piperidínicos, seguido de 14 aminoácidos não-protéicos e 13 flavonóides e isoflavanonas. Dentro da tribo Phaseoleae, no gênero *Canavalia*, as estruturas identificadas são compostas de oito aminas, cinco flavonóides e dois triterpenos. O gênero *Mucuna*, também da tribo Phaseoleae, apresentou seis isoflavonóides e três antocianinas e antocianidinas. A tribo Crotalareae é considerada como primitiva, sendo 59,5% dos seus compostos substâncias nitrogenadas, 22,8% flavonóides e 17,7%

¹ Parte de tese apresentada na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo primeiro autor, como um dos requisitos para obtenção do grau de *Magister Scientiae* em Fitotecnia. Aceito para publicação em 20.02.1995.

² Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 23851-970 Seropédica, RJ.

terpenóides. A tribo Phaseoleae, considerada evoluída, apresenta 53,6% de flavonóides, 26,9% de substâncias nitrogenadas e 19,5% de terpenóides.

Segundo alguns autores, os aminoácidos não-protéicos apresentam maior diversidade estrutural nas tribos de plantas localizadas em áreas de clima temperado e menor nas tribos em áreas tropicais. Como exemplo de compostos específicos isolados destas tribos pode-se citar a monocrotalina, que foi isolada de sementes, folhas e caules de *Crotalaria spectabilis*. No caso da mucuna-preta, foram identificados os alcalóides mucunina, mucunadina, prurienina, prurieninina, mucuadina, mucuadinina e mucuadininina (2).

A utilização prática de substâncias micromoleculares naturais isoladas de plantas tem sido revelada freqüentemente na literatura. Natelson, citado por ALLEN e ALLEN (2), revela que a *Mucuna deeringiana* é rica em L-dopa, um aminoácido não-protéico, o qual apresenta bons resultados no combate ao mal de Parkinson.

As concentrações das substâncias secundárias na constituição das plantas são variáveis devido a vários fatores. Diversos testes já demonstraram que a síntese e a degradação desses compostos metabólitos ocorrem simultaneamente. Por exemplo, a flutuação da concentração total e, ou, a taxa de retorno têm sido descobertas em vários alcalóides (8). Isso leva a concluir que os metabólitos secundários estão integrados no complexo morfológico e bioquímico de organização das plantas.

Um dos principais fatores externos que alteram a composição dos metabólitos nas plantas é a luminosidade e o fotoperíodo. A acumulação fotocontrolada de vários constituintes fenólicos e o fotoperíodo alterando o conteúdo das substâncias já são conhecidos por vários pesquisadores. ENGELSMA (10) cita que em *Salvia*, durante o período de luz, o conteúdo de fenóis aumentou, e durante o subsequente período escuro o conteúdo dos fenóis diminuiu.

Em alguns casos, a luz não apresenta efeitos sobre a produção ou degradação das substâncias. WALLER e LEE (18), observando o comportamento do alcalóide ricinina em *Ricinus communis*, constataram que com o desenvolvimento da planta a quantidade de substância micromolecular decrescia por causa da translocação efetuada para as sementes, e sua degradação durante a respiração era observada tanto na presença quanto na ausência de luz.

O período do ano também apresenta grande influência na composição dos metabólitos secundários em plantas. EREZ e LAVEE (11) caracterizaram a variação do conteúdo do flavonóide prunina em gemas de pessegueiro durante o ano, sendo encontrado alto nível de prunina no final do verão e grande decréscimo durante o outono.

O presente trabalho teve por objetivo procurar identificar alguns grupos de substâncias secundárias presentes em quatro leguminosas utilizadas como adubo verde.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma abordagem fitoquímica para a prospecção de constituintes químicos em extratos das plantas no laboratório de fitoquímica da UFRRJ. Para isso, foram semeadas no campo do CNPDS/EMBRAPA quatro leguminosas, utilizadas como adubo verde: mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), crotalária (*Crotalaria juncea*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) e feijão-bravo-do-ceará (*Canavalia brasiliensis*).

2.1. *Elaboração dos extratos*

A coleta de cada leguminosa foi realizada no campo, em diferentes épocas do ano, para se obterem materiais vegetais bastante uniformes. Esses foram secados em estufa a 65°C constantes e, em seguida, moídos. De cada material foram pesadas duas partes de 300 gramas para elaboração dos extratos. Uma foi acondicionada em aparelho de Soxhlet de extração contínua com cerca de dois litros de clorofórmio/cultura, para a extração dos constituintes menos polares. A outra foi colocada em liquidificador com 1,5 litro de álcool etílico:H₂O (7:3) e, em seguida, aquecida em banho-maria durante 10 minutos e filtrada em papel-filtro, para obterem os extratos com os constituintes mais polares.

Após a extração, as soluções foram concentradas em evaporador rotativo sob vácuo, obtendo-se 150 ml de soluções de clorofórmio e 600 ml de soluções alcoólicas.

Os testes realizados para prospecção das diferentes classes de substâncias foram desenvolvidos, seguindo a metodologia descrita por MATOS (14).

2.2. *Testes Realizados*

2.2.1. *Teste para heterosídeos cianogênicos*

Coletaram-se 10 gramas dos materiais secos e moídos e os colocaram em um recipiente fechado com 50 ml de água e 1 ml de H₂SO₄ 1N e presa à tampa uma fita de picrato de sódio, mantendo-se a mistura em banho-maria por duas horas. A cor vermelho-castanha no papel indica resultado positivo.

2.2.2. Testes com o extrato hidroalcoólico

Separaram-se sete tubos de ensaio e colocaram 4 ml do extrato em cada um deles. O restante do extrato foi filtrado, separando-se os seus resíduos sólidos e o extrato acidulado a pH 4 e, em seguida, com os tubos foram realizados os seguintes testes:

2.2.2.1. *Teste para fenóis e taninos* - Colocaram-se três gotas de FeCl_3 em um dos tubos de ensaio e observou-se a reação: precipitados azul e, ou, vermelho indicam fenóis, precipitado azul indica taninos pirogálicos e verde, taninos condensados.

2.2.2.2. *Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides* - Em outros três tubos de ensaio condicionou-se um deles a pH 3, o outro a pH 8,5 e o terceiro a pH 11 e observou-se o aparecimento de cores conforme o Quadro 1.

QUADRO 1 - Reações do extrato hidroalcoólico para identificação de antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas e flavanonóis

Constituintes	pH 3	pH 8,5	pH 11
Antocianinas e antocianidinas	Vermelho	Lilás	Azul Púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	Amarelo
Chalconas e auronas	Vermelho	-	Vermelho Púrpura
Flavanonóis	-	-	Vermelho Laranja

2.2.2.3. *Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas* - Em outros dois tubos, adicionou-se HCl para obter pH 1-3 e no outro, NaOH para obter pH 11. Fez-se o aquecimento e observou o aparecimento de cores de acordo com o Quadro 2.

2.2.2.4. *Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonois e xantonas* - No último tubo colocou-se magnésio granulado e 0,5 ml de HCl concentrado. A cor vermelha indica a presença destas substâncias.

2.2.2.5. *Teste para esteróides e triterpenoides* - Colocaram-se 30 ml do extrato restante em um becher. Este foi secado e o resíduo,

QUADRO 2 - Reações do extrato hidroalcoólico para identificação de leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Constituintes	pH 1-3	pH 11
Leucoantocianidinas	Vermelho	-
Catequinas	Pardo-amarelado	-
Flavonas	-	Vermelho-laranja

reextraído com clorofórmio. Foram adicionados à solução 1 ml de anidrido acético e três gotas de H_2SO_4 concentrado. Cor azul seguida de verde: esteróides livres. Cor parda até vermelha: triterpenóides pentacíclicos livres.

2.2.2.6. *Teste para saponinas* - O resíduo insolúvel do teste anterior foi redissolvido em água destilada. A presença de espuma abundante e persistente indica saponina.

2.2.2.7. *Teste para ácidos orgânicos livres* - Em outro becher foram colocados 30 ml do extrato e secados. Adicionaram-se etanol e 1 ml de NH_4OH concentrado. A mistura foi aquecida até a secura. O becher foi colocado em estufa e redissolvido em água. A mistura foi colocada em dois frascos, um deles com 1 ml de NaOH 1N e uma tira de papel com reagente de Nessler. A cor marrom no papel preso no frasco com NaOH indica a presença de ácidos fixos.

2.2.2.8. *Teste para resinas* - O resíduo sólido do extrato hidroalcoólico foi extraído com etanol e foram colocados 3 ml desse resíduo em um tubo de ensaio, ao qual adicionou-se água. O precipitado floculoso que se aglomera após agitação indica a presença de resinas.

2.2.2.9. *Teste para alcalóides* - Foi separado 1/3 do restante da solução alcoólica e acrescentado NH_4OH até pH 11, fazendo-se a separação das bases orgânicas com éter: clorofórmio (3:1), reservando a fase aquosa. As bases orgânicas foram reextraídas com HCl 0,1N, sendo a solução aquosa ácida dividida em três tubos de ensaio e adicionadas a cada tubo três gotas de reagentes Hager, Mayer e Dragendorff. O precipitado floculoso em pelo menos dois tubos indica a presença de alcalóides.

2.2.2.10. *Teste para bases quaternárias* - Foi acidulada a solução aquosa do item anterior e filtrada para três tubos de ensaio e repetida a

prospecção para alcalóides. Precipitado floculoso indica a presença de bases quaternárias.

. Prospecção para constituintes ácidos e neutros após hidrólise

Pegou-se o restante do extrato aquoso do teste com extrato hidroalcoólico e adicionou HCl. A solução foi aquecida e reextraída com éter. A solução etérea foi retirada e submetida ao seguinte teste:

2.2.2.11. *Teste para ácidos fortes* - A solução etérea foi misturada com NaHCO_3 , a 2,5%, para retirada dos ácidos fortes e reservada, repetindo-se o teste para ácidos com reagente de Nessler descrito no teste para ácidos orgânicos livres. Resultado positivo indica a presença de ácidos fortes.

. Separação dos ácidos fracos e fenóis

A solução etérea privada dos ácidos fortes no item anterior foi misturada com NaOH a 2%. Reservou-se a solução etérea. A solução alcalina foi acidulada e fez-se a reextração com éter. A fase orgânica após filtração foi submetida aos seguintes testes:

2.2.2.12. *Teste para antraquinonas* - Em 5 ml da solução etérea adicionaram-se 2 ml de NH_4OH e observou o aparecimento de fases. A cor vermelha na fase aquosa alcalina indica presença de hidroxiquinonas.

2.2.2.13. *Teste para antranóis* - Caso a reação para antraquinonas seja negativa, no mesmo tubo adiciona-se 1 ml de água oxigenada. A cor vermelha indica a presença de antranóis.

. Preparação - O restante do extrato etéreo foi dividido em duas porções de 1/4 e 3/4, concentrado e redissolvido em etanol, filtrado e submetido aos seguintes testes:

2.2.2.14. *Teste para cumarina* - Fizeram-se duas manchas em um papel-filtro e aplicou em uma delas uma gota de KOH 1N. As manchas foram parcialmente cobertas e expostas à luz ultravioleta (UV). Após dois minutos, descobriram-se as manchas e as observaram sobre a UV. A fluorescência azulada forte na mancha alcalinizada indica a presença de cumarina.

2.2.2.15. *Teste para aglicona flavonóides* - O restante da solução

etanólica do item preparação foi dividida em sete tubos e repetidos os testes iniciais.

. Prospecção dos constituintes neutros

Retomaram-se as soluções dos constituintes neutros do item separação dos ácidos fracos e fenóis. A solução foi filtrada e levada até a secura.

2.2.2.16. *Teste para agliconas esteróides e triterpenóides* - O resíduo do item anterior foi redissolvido em clorofórmio e repetido o teste para esteróides e triterpenóides.

2.2.3. *Teste dos constituintes do extrato em solvente lipofílico (clorofórmio).*

. Separação das bases orgânicas - Retiraram-se as bases orgânicas com HCl 0,1N e água em funil de separação, reservando os extratos privados das bases. A fase aquosa foi alcalinizada e as bases orgânicas foram extraídas com solução éter:clorofórmio, reservando-se a fase aquosa. Separou-se a solução éter:clorofórmio em duas partes. Retomaram-se as bases contidas na metade da solução éter:clorofórmio com HCl 1N, retornando a fase orgânica para o recipiente do extrato original.

2.2.3.1. *Teste para alcalóides* - Separou-se a solução ácida do item anterior e acrescentaram-se os reagentes de Hager, Dragendorff e Mayer. A formação de precipitado floculoso indica alcalóides.

2.2.3.2. *Teste para bases quaternárias* - Retomou-se a fase aquosa reservada na separação das bases orgânicas, acidulou com ácido acético e colocou reagente de Hager. A formação de precipitados indica bases quaternárias ou alcalóides anfóteros.

. Separação dos ácidos fortes - Retomaram-se os extratos privados de bases e tratou-os em funil de separação com 60 ml de NaHCO₃, a 2%, e 20 ml de água destilada. A fase orgânica foi reservada para o item separação dos ácidos fracos e fenóis. As soluções aquosas foram aciduladas e os ácidos livres, retomados com éter etílico. A solução etérea foi liberada dos ácidos com 20 ml de água, filtrada e foram realizados os seguintes testes:

2.2.3.3. *Testes para ácidos fortes* - As soluções ácidas, depois de

secas, foram submetidas a testes para ácidos orgânicos livres.

. *Separação dos ácidos fracos e fenóis* - Retomaram-se as soluções orgânicas privadas das bases e dos ácidos fortes obtidas no item separação dos ácidos fortes. Extraíram-se os ácidos fracos e fenóis com NaOH, a 2%, e água. As soluções aquosas foram reunidas, filtradas e aciduladas. Extraíram-se os ácidos e fenóis livres com éter etílico. A fase orgânica foi lavada com água e preparada para os seguintes testes:

2.2.3.4. *Testes para constituintes fenólicos* - Concentrou-se metade da solução etérea obtida no item anterior e a redissolveu em álcool. Foram aplicados os mesmos quatro testes descritos no início do trabalho. Resultado positivo indica a presença de um ou mais dos seguintes constituintes: fenóis, catequinas e flavonóides.

2.2.3.5. *Teste para antranóis, hidroxiantraquinonas e coumarinas* - Aplicaram-se ao restante da solução etérea os mesmos testes descritos para antraquinonas, antranóis, cumarina e aglicona flavonóides. Resultados positivos indicam a presença de um ou mais destes constituintes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 3, o teste para os heterosídeos cianogênicos mostra-se negativo para todas as culturas das leguminosas estudadas. Esses resultados vêm confirmar os dados de Seigler, citado por CONN (8), em que poucos gêneros da família *Leguminosae* apresentam substâncias desta classe, entre elas estão a *Acacia*, *Holocalix*, *Goodia*, *Vicia* e o *Phaseolus*. Linamarina e lotaustralina são os dois glicosídeos cianogênicos mais comuns descobertos nas plantas que ocorrem nas famílias das *Leguminosae* e *Euphorbiaceae* (8).

Os testes revelam a presença de taninos condensados ou não-hidrolisados e os catéquicos ou hidrolisados. Os taninos condensados apresentam resultados fortemente positivos para a mucuna-preta, positivos para a crotalária juncea e médio/positivos para o feijão-bravo-do-ceará e feijão-de-porco. Os taninos catéquicos também se mostram fortemente positivos para a mucuna-preta, fracamente positivo para a crotalária e positivo para as demais. Em termos agronômicos, a importância dos taninos vegetais sintetizados pelas plantas ocorre pela sua efetividade como repelente a predadores, animais e microrganismos. ALMEIDA (3) constatou que os taninos adicionados ao solo em contato com a planta inibiram a ação das giberelinas em plântulas de ervilha. Dentre as leguminosas, as espécies que apresentam taninos de importância comercial

QUADRO 3 - Substâncias presentes em quatro culturas de leguminosas extraídas em extrato hidroalcoólico a 70% (etanol + água)

Constituintes	Culturas			
	M.P.	C.J.	F.B.C.	F.P.
Heterosídeos cianogênicos*	-	-	-	-
Taninos condensados	++++	+++	++	++
Flavonóis, flavanonas	+	++	+	++
Flavanonóis e, ou, xantonas				
Taninos catéquicos	++++	+	++	++
Antocianinas e antocianidinas	-	-	-	-
Flavanonóis	++	+	+	+
Chalconas	-	-	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	-	-
Resinas	-	+++	-	-
Esteróides livres	++++	++++	-	++
Triterpenóides livres	-	-	-	-
Saponinas	+++	++++	++	++
Bases quaternárias	-	-	-	-
Alcalóides	-	-	-	-
Ácidos orgânicos livres	-	-	-	-
Hidroxiquinonas	-	-	-	-
Antranóis	-	-	-	-
Coumarinas	-	-	-	-
Agliconas esteróides ou triterpenóides	++++	++++	-	++++
Agliconas flavonóides	-	-	-	-
Ácidos orgânicos fortes	-	-	-	-

M.P.= mucuna-preta.

C.J.= crotalária.

F.B.C.= feijão-bravo-do-ceará.

F.P.= feijão-de-porco.

- teste negativo + fracamente positivo ++ médio/positivo

+++ positivo +++++ fortemente positivo.

são *Acacia mearnsii*, *A. catechu*, *Caesalpinia coriaria*, *C. spinosa* e *C. brevifolia* (8). PASCUAL e JELLIS (15) estudaram os taninos retidos

em plantas por meio de ligações com outros componentes e os taninos livres e descobriram que os taninos ligados proporcionam maior resistência às plantas contra o ataque de *Fusarium culmorum* e *F. solani*.

Nos testes para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e, ou, xantonas obteve-se reação positiva em todas as culturas. Os testes posteriores de confirmação dos resultados para flavanonóis foram positivos e os de flavonas, flavonóis e xantonas, negativos. Com esses resultados constata-se a presença de flavanonóis e, ou, flavanonas. Os flavonóides constituem uma das maiores classes de compostos das plantas superiores. Alguns são facilmente reconhecidos em pigmentos de flores e em muitas famílias de angiospermas. Os flavonóides nas plantas superiores atuam como atraente de animais que envolvem a polinização. Outra função seria como agente protetor contra organismos fitopatogênicos (8). A phlorizina encontrada em raízes de macieira é inibidora do crescimento de plântulas da própria espécie e de outras (3). CASTANEDA *et alii* (7) descobriram que alguns flavonóides inibiam o desenvolvimento de *Amaranthus leucocarpus* e de *Helminthosporium* e estimulavam o crescimento de *Alternaria*.

Alguns isoflavonóides são importantes como fitoalexinas e compostos anti-herbívoros em leguminosas (6). HEDIN *et alii* (13) observaram que os flavonóides existem em teor significativamente alto em *Gossypium arboreum* somente nas pétalas e que a gossipetina é o flavonóide mais tóxico testado sobre a alimentação de *Heliothis virescens* (lagarta-da-maçã-do-algodão).

As chalconas, apesar da não caracterização desta classe de compostos nas leguminosas, são de grande importância no metabolismo das plantas que as possuem. Elas são intermediárias na formação de todos os flavonóides. A interconversão da chalcona para flavona é catalisada pela enzima chalcona flavanona isomerase. A chalcona também pode ser convertida em aurona, um outro composto flavonóide (8).

Nos testes realizados, as resinas foram identificadas apenas na cultura da crotalária juncea e não apareceram nas demais leguminosas. As resinas nas plantas são, geralmente, encontradas nas células glandulares que desenvolvem um sistema de síntese e eliminação dos produtos secundários. No interior das células, as resinas se desenvolvem nos plastídeos e nos retículos endoplasmáticos e são encontradas em várias espécies de *Pinus*.

Os testes para esteróides livres mostram-se fortemente positivos nos extratos hidroalcoólicos da mucuna-preta e crotalária juncea. Esses testes apresentam-se positivos para o feijão-de-porco, enquanto no feijão-bravo-do-ceará é negativo. Os esteróides fazem parte de um dos maiores grupos de metabólitos secundários (terpenos), freqüente na

maioria das plantas (8). A maioria dos óleos essenciais das plantas são constituídos de monoterpenóides, que são produtos voláteis que geralmente interferem nas relações entre plantas e animais. Alguns fungos produzem terpenóides que têm forte ação antimicrobiana (3). Triterpenóides livres não foram identificados em nenhuma das leguminosas.

O teste para saponinas apresenta resposta fortemente positiva na crotalária juncea e na mucuna-preta, enquanto no feijão-de-porco e feijão-bravo-do-ceará é positiva. No estudo de outras leguminosas descobriu-se a presença de duas saponinas em *Phaseolus vulgaris*, a phaseoloside D e a E. Foram descobertos, também, efeitos antifúngicos e antibiológicos de saponinas sobre o crescimento de hifas de *Piricularia oryzae*. Entretanto, outras espécies de fungos mostraram-se resistentes às saponinas, como: *Sclerotinia fructivora* e *Phoma officinalis*. Os fungos sensíveis às saponinas inibem a absorção de K^+ e Mg^{++} no micélio (1). Em plantas de *Ilex opaca*, saponinas foram isoladas e verificou-se que a concentração da mesma varia com a estação do ano (5).

Bases quaternárias, alcalóides, ácidos orgânicos livres, hidroxiquinonas, antranóis e cumarinas não estão caracterizadas em nenhuma das leguminosas estudadas. Apesar de os alcalóides não terem sido identificados, esses compostos são bastante ativos tanto em plantas quanto em microrganismos e apresentam um dos mais diversos grupos de metabólitos secundários. A primeira estrutura isolada foi a morfina, em 1805 (8). Diversas estruturas de alcalóides já foram determinadas e dentre elas a monocrotalina, encontrada em diversas espécies de plantas. Os alcalóides causam efeitos, como lesões nos tecidos hepáticos e cardiopulmonares dos mamíferos (9).

Nas plantas, em alguns casos os alcalóides funcionam como protetores contra o ataque de pragas e doenças, como é o caso do tabaco, *Nicotiana sylvestris*, que após um dano mecânico apresentou acréscimo de 450% na concentração de alcalóides, comparado com as plantas não-danificadas (4). Os alcalóides funcionam, também, como identificadores para plantas hospedeiras, como algumas espécies de *Pedicularis* que foram examinadas por transferir alcalóides das plantas hospedeiras. Dentre elas, *P. groenlandica* e *P. bracteosa* foram caracterizadas como absorvedoras de pirolizidina do hospedeiro *Senecio triangularis* (16).

Outra classe de substâncias bastante difundida nas plantas superiores e não-identificada pelos testes feitos nas leguminosas analisadas são as cumarinas. São derivadas da benzopirona e apresentam efeitos marcantes na fisiologia dos vegetais. Afetam a fotossíntese e a fotofosforilação, reduzem a síntese de glicose e inibem os passos iniciais da biossíntese da clorofila (8). Os efeitos fisiológicos das cumarinas

resultam, dentre outras coisas, na regularização do crescimento das plantas e germinação das sementes. A *Angelica archangelica* apresenta dificuldades na germinação das sementes em razão de a superfície das sementes apresentar cerca de 15 vezes mais furanocumarinas que a superfície das frutas.

As agliconas esteróides apresentam resultado fortemente positivo para a mucuna-preta, crotalária e feijão-de-porco, enquanto a reação é negativa para o feijão-bravo-do-ceará. As agliconas esteróides são as estruturas dos esteróides desprovidas da cadeia de açúcar. São muito encontradas em plantas de solanáceas, como a solasodina e a tomatidina.

No Quadro 4, na avaliação dos extratos das plantas com clorofórmio, observa-se reação altamente positiva das bases quaternárias para o feijão-bravo-do-ceará e o feijão-de-porco e reação negativa para a mucuna-preta e a crotalária.

As flavonas, flavonóis e xantonas mostram-se presentes no extrato menos polar, confirmando a sua presença nas leguminosas estudadas.

Comparando-se os resultados obtidos com o levantamento realizado por SIMÃO (17), constatou-se a presença de quatro alcalóides e três antocianinas e antocianidinas nas plantas do gênero *Mucuna*,

QUADRO 4 - Substâncias presentes em quatro culturas de leguminosas extraídas em extrato clorofórmico

Constituintes	Culturas			
	M.P.	C.J.	F.B.C.	F.P.
Alcalóides	-	-	-	-
Bases quaternárias	-	-	++++	++++
Ácidos fortes livres	-	-	-	-
Fenóis	-	-	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	++	+	+++	++
Leucoantocianidinas catequinas e flavanonas	-	-	-	-
Hidroxiantraquinonas e seus heterosídeos	-	-	-	-
Cumarina	-	-	-	-
Antranóis	-	-	-	-

M.P.= mucuna-preta.

C.J.= crotalária.

F.B.C.= feijão-bravo-do-ceará.

F.P.= feijão-de-porco.

- teste negativo + fracamente positivo ++ médio/positivo

+++ positivo +++++ fortemente positivo.

enquanto nas análises aqui realizadas não foram encontradas estas substâncias.

Para o gênero *Crotalaria*, no levantamento feito por SIMÃO (17), foram encontrados cerca de 70 alcalóides, sendo 69 pirrolizidínicos, uma chalcona; 13 flavonas, flavanonas e flavanas; quatro flavonóis e flavanóis; dois esteróides; dois triterpenos e uma cumarina. Nas análises realizadas não foram identificados qualquer tipo de alcalóides, chalconas e cumarinas, com exceção apenas das agliconas esteróides ou triterpenóides. Citam-se diversos tipos de flavonóides nas bibliografias, enquanto nos testes realizados os resultados são negativos apenas para flavonas e flavonóis, sendo positivo para as demais.

No gênero *Canavalia* identificou-se a presença de glicosídeos cianogênicos, vários flavonóides, esteróides e triterpenos (17). As duas espécies de *Canavalia* testadas apresentam confirmação para os flavonóides, com exceção das flavonas, flavonóis, esteróides e triterpenóides. Os testes são negativos para glicosídeos cianogênicos, provavelmente pela volatilização das substâncias, já que o material foi seco em estufa. Nas agliconas esteróides, esteróides livres ou triterpenóides, os testes são positivos apenas no feijão-de-porco, confirmando os resultados bibliográficos, o mesmo não ocorrendo com o feijão-bravo-do-ceará, que não apresentou estas substâncias. Estes resultados demonstram que a presença de uma substância em determinada espécie de planta não significa a sua presença em outra espécie de um mesmo gênero.

4. CONCLUSÕES

- Dentre os compostos identificados estão os taninos condensados e catéquicos, flavanonóis e as saponinas, que foram encontrados em todas as leguminosas.
- As resinas são identificadas apenas na crotalária, e os esteróides livres e as agliconas esteróides, na mucuna-preta, crotalária e no feijão-de-porco.
- A presença destes compostos nas leguminosas pode, de alguma forma, influenciar o desenvolvimento de outras espécies vegetais e de microrganismos, dependendo apenas dos seus teores nas plantas e da forma como serão liberados.
- A presença de bases quaternárias no solvente lipofílico e a sua não-identificação no solvente hidrofílico confirmam a capacidade de extração dos diferentes solventes com substâncias de diferentes polaridades.

5. RESUMO

Foi realizada abordagem fitoquímica para prospecção de

constituintes químicos em extratos de leguminosas utilizadas como adubo verde: mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), crotalária (*Crotalaria juncea*), feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) e feijão-bravo-do-ceará (*Canavalia brasiliensis*). Os materiais vegetais foram coletados em diferentes fases de seu desenvolvimento, secados em estufa e triturados. A extração dos constituintes menos polares foi realizada em aparelho de Soxhlet com clorofórmio e a extração dos constituintes mais polares, com álcool etílico:H₂O (7:3), com homogeneização e filtragem a quente. As soluções foram concentradas em evaporador rotativo a vácuo e, em seguida, iniciada a seqüência dos testes. Pelos testes químicos realizados verificou-se a presença de taninos condensados e catéquicos, flavanonóis e saponinas, que foram encontrados em todas as leguminosas. As bases quaternárias não foram constatadas nos extratos hidroalcoólicos, mas verificadas no extrato clorofórmico das plantas de feijão-bravo-do-ceará e feijão-de-porco. Outras substâncias como resinas, esteróides livres e agliconas esteróides foram encontradas em algumas espécies. A presença destes compostos constatados nas leguminosas, provavelmente, influencia o crescimento e desenvolvimento de outras espécies vegetais e de microrganismos quando liberados no ambiente.

6. ABSTRACT

(IDENTIFICATION OF SECONDARY SUBSTANCES IN LEGUMES UTILIZED AS GREEN MANURES)

The experiment was conducted to characterize secondary metabolites of *Mucuna aterrima*, *Crotalaria juncea*, *Canavalia ensiformis* and *Canavalia brasiliensis*. The plant material was dried and ground for extraction of low polarity substances using chloroform and for substances of higher polarity using ethanol:water (7:3). Condensed tannins catechins, flavonoids and saponins were found in all legumes. Quaternary bases were found in the chloroform extracts of *C. ensiformis* and *C. brasiliensis*. Resins were found in *C. juncea*, free steroids and aglicon steroids in *C. juncea*, free steroids and aglicon steroids in *C. juncea*, *M. aterrima* and *C. ensiformis*. In the ethanol:water extracts, flavonoids were found at all legumes and quaternary bases in *C. brasiliensis* and *C. ensiformis* extracts. These compounds in soil probably have effect in the development of other plants and microorganisms.

7. LITERATURA CITADA

1. AGARWAL, S. K. & RASTIGI, R. P. Review triterpenoid saponins and their genins. *Phytochemistry*, 13: 2623- 2645. 1974.

2. ALLEN, O. N. & ALLEN, E. K. *The leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation.* Wisconsin, University of Wisconsin, 1981. 812p.
3. ALMEIDA, F. S. de. Plantio direto. Efeitos alelopáticos das coberturas mortas. *Informe Agropecuário, 11(129):* 44-61, 1985.
4. BALDWIN, I. T. Damage-induced alkaloids in tobacco. Pot-bound plants are not inducible. *Journal of Chemical Ecology, 14:*1113-1120, 1988.
5. BARBOSA, P.; GROSS, P.; PROVAN, G. J. & STERMITZ, F. R. Allelochemicals in foliage of unfavored tree host of the gypsy moth, *Lymantria dispar* L.2. Seasonal variation of saponins in *Ilex opaca* and identification of saponin aglycones. *Journal of Chemical Ecology, 16:*1731-1738, 1990.
6. BURDEN, B. J. & NORRIS, D. M. Role of isoflavonoid coumestrol in the constitutive antixenotic properties of "Davis" soybeans against an oligophagous insect the Mexican bean beetle. *Journal of Chemical Ecology, 18:*1069-1081, 1992.
7. CASTANEDA, P.; GARCIA, M. R.; HERNANDEZ, B. E.; TORRES, L. A.; ANAYA, A. L. & MATA, R. Effects of some compounds isolated from *Celaenodendron mexicanum* Standl (Euphorbiaceae) on seed and phytopathogenic fungi. *Journal of Chemical Ecology, 18:* 1025-1037, 1992.
8. CONN, E. E. *The biochemistry of plants; a comprehensive treatise. Secondary Products.* New York, Academic Press, 1981. 798p.
9. DEYO, J. A. & KERKVLIT, N. I. Immunotoxicity of the pyrrolizidine alkaloid monocrotaline following subchronic administration to C57B1/6 mice. *Fundamental and Applied Toxicology, 14:*842-849, 1990.
10. ENGELSMA, G. Effect of daylength on phenol metabolism in the leaves of *Salvia occidentalis*. *Plant Physiology, 63:*765-768, 1979.
11. EREZ, A. & LAVEE, S. Prunin identification, biological activity and quantitative change in comparison to naringenin in dormant peach buds. *Plant Physiology, 44:*342-346, 1969.
12. GOMES, C. M. R.; GOTTLIEB, O. R.; GOTTLIEB, R. C. & SALATINO, A. Phytochemistry in perspective: chemosystematics of the papilionoideae. In: Polhill, R.M. & Ravan, P.H. (ed.). *Advances in legumes systematics.* Kew, Royal Botanic Gardens, 1981. Part 2, p.465-488.
13. HEDIN, P. A. ; JENKINS, J. N. & PARROTT, W. L. Evaluation of flavonoids in *Gossypium arboreum* (L) cottons as potential source of resistance to tobacco budworm. *Journal of Chemical Ecology, 18:*105-114, 1992.
14. MATOS, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental.* Fortaleza, Edições UFC, 1988. 128p.
15. PASCUAL, V. M. J. & JELLIS, G. J. Factors influencing establishment. *Journal Agriculture Science, 115:*57-62, 1992.
16. SCHNEIDER, M. J. & TERMITZ, F. R. Uptake of host plant alkaloids by root parasitic *Pediculans spp.* *Phytochemistry, 29:*1811-1814, 1990.
17. SIMÃO, S. M. *Evolução micromolecular em papilionoideae. (Leguminosae).* São Paulo, USP, 1990. 136p. (Tese de doutorado).
18. WALLER, G. R. & LEE, J. L. C. Metabolism of the pyridone ring of *Ricinus communis* L. *Plant Physiology, 44:*522-526, 1969.