

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E  
ANTITUMORAL DE *Hibiscus sabdariffa* L. CULTIVADA COM  
ADUBAÇÃO ORGÂNICA**

**DIOVANY DOFFINGER RAMOS**

**DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2011**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E  
ANTITUMORAL DE *Hibiscus sabdariffa* L. CULTIVADA COM ADUBAÇÃO  
ORGÂNICA**

DIOVANY DOFFINGER RAMOS  
Biólogo *M. Sc.*

ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. MARIA DO CARMO VIEIRA

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2011


**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E  
ANTITUMORAL DE *Hibiscus sabdariffa* L. CULTIVADA COM ADUBAÇÃO  
ORGÂNICA**

por

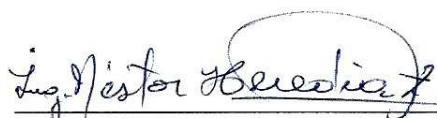
Diovany Doffinger Ramos

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal para obtenção do título de *Doctor Science*

Aprovada em: 16/12/2011

  
Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Maria do Carmo Vieira  
Orientadora – UFGD

  
Prof. Dr. Silvio Bueno Pereira  
UFV

  
Prof. Dr. Néstor Antonio Heredia Zárate  
Co-Orientador – UFGD

  
Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Luciane Almeri Tabaldi  
UFSM

  
Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Magnólia Aparecida Silva da Silva  
UFRGS

À minha mãe Eva pelo suporte, incentivo e orações.  
Ao meu pai Orides (*In Memoriam*) pelo apoio e confiança.  
Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, pois sem Ele coisa alguma seria possível.

À professora Dr<sup>a</sup>. Maria do Carmo Vieira, pela orientação e por ter acreditado neste projeto e principalmente pela paciência e amizade.

Aos professores Dr. Néstor Antonio Heredia Zárate e Dr<sup>a</sup>. Anelise Samara Nazari Formagio, pelo apoio, co-orientação e incentivo.

À pesquisadora Dr<sup>a</sup>. Eliana Janet Sanjinez Argandoña, pela sua orientação e colaboração indispensável para conclusão deste trabalho.

Aos meus irmãos David, Deley e Dayana, pelo convívio e amizade ao longo de todos esses anos.

À amada Jaquelini, pelo amor, carinho, companheirismo, amizade e compreensão nos últimos meses.

Às minhas cunhadas Kelly e Tamara, pelo apoio, conselhos e amizade.

À minha sobrinha Lívia, pelo simples fato de existir.

Aos amigos Thiago e Natália, pela amizade e companheirismo, sempre incentivando e suportando juntos.

Aos amigos Eldon e Juglans, pela amizade, conselhos e todo apoio em vários momentos dessa caminhada.

À toda família Ramos e Doffinger que sempre torceram, incentivaram e oraram pelo sucesso.

À Universidade Federal da Grande Dourados, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, por acreditarem neste projeto e pela oportunidade de realizar o curso.

Aos funcionários e alunos do Horto de Plantas Medicinais por terem tornado possível a realização do experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa concedida e pelos recursos financeiros destinados à execução do projeto de pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

A todos, muito obrigado!

## **BIOGRAFIA**

**DIOVANY DOFFINGER RAMOS**, filho de Orides Ramos e Eva Maria Doffinger Ramos, nasceu em Dourados, MS, no dia 11 de agosto de 1984.

Em fevereiro de 2002 ingressou no curso de Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul.

Em dezembro de 2005 concluiu a curso de Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul.

Em março de 2006 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, na Universidade Federal da Grande Dourados e submeteu-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2008.

Em março de 2008 ingressou no Curso de Doutorado em Produção Vegetal pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia, na Universidade Federal da Grande Dourados.

Em dezembro de 2011 submeteu-se à defesa de tese de doutorado e foi aprovado, recebendo o título de doutor em Agronomia pela Universidade Federal da Grande Dourados.

## SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO GERAL .....	x
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	3
ARTIGO 1. PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE NUTRIENTES DE ROSELA CULTIVADA COM CAMA-DE-FRANGO E ORGANOSUPER® .....	4
RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
1 INTRODUÇÃO.....	7
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4 CONCLUSÕES .....	24
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25
ARTIGO 2. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTITUMORAL DE <i>HIBISCUS</i> <i>SABDARIFFA</i> L. CULTIVADA COM ADUBAÇÃO ORGÂNICA .....	28
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
1 INTRODUÇÃO .....	31
2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4 CONCLUSÕES .....	46
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47
6 APÊNDICES .....	51

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

TABELA 1. Análise química das amostras de solo, colhidas na área do experimento, antes do transplante e após a colheita da rosela e análise da cama-de-frango e do organosuper<sup>®</sup>.

TABELA 2. Massas frescas e secas e número de cálices de plantas da rosela cultivadas sob duas fontes de adubação orgânica e três modos de aplicação, no ano agrícola 2009/2010.

TABELA 3. Massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar e fibras no caule de plantas da rosela cultivada sob duas fontes de adubação orgânica e três modos de aplicação mais a testemunha, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010.

TABELA 4. Massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar e fibras no caule de plantas da rosela cultivada sob duas fontes de adubação orgânica e três modos de aplicação mais a testemunha, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010.

TABELA 5. Massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar, fibras no caule e teores de nitrogênio das folhas de plantas da rosela cultivada sob três modos de aplicação, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010.

TABELA 6. Teores de nutrientes das folhas da rosela cultivada com cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> mais a testemunha, nos anos de 2008/2009 e 2009/2010. Dados das formas de aplicação foram agrupados.

TABELA 7. Teores de nutrientes de folhas da rosela cultivada sob três formas de aplicação dos resíduos orgânicos, nos anos agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010. Dados dos resíduos orgânicos foram agrupados.

### ARTIGO 2

TABELA 1. Teores de fenóis e flavonóides do extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com dois resíduos orgânicos e três formas de adição mais o controle .

TABELA 2. Análise química das amostras de solo, colhidas na área do experimento, antes do transplante e após a colheita da rosela. UFGD, Dourados, MS, 2008/2009.



TABELA 3. Atividade antioxidante do extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com dois resíduos orgânicos e três formas de adição mais o controle.

TABELA 4. A  $IC_{50}$  do extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com cama-de-frango, organosuper<sup>®</sup> mais o controle contra células tumorais humanas.

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO 1

FIGURA 1. Precipitações totais, umidade relativa do ar e temperaturas máximas e mínimas e (médias por decêndios), registradas em Dourados durante o período de realização dos experimentos.

### ARTIGO 2

FIGURA 1. Atividade do extrato metanólico de folhas cultivadas com cama-de-frango (A) e organosuper<sup>®</sup> (B) incorporados, após 48 h de exposição contra células tumorais humanas.

FIGURA 2. Atividade do extrato metanólico de cálices cultivados com cama-de-frango (A) e organosuper<sup>®</sup> (B) incorporados, após 48 h de exposição contra células tumorais humanas.

FIGURA 3. Atividade do extrato metanólico de folhas (A) e cálices (B) cultivados sem aplicação dos resíduos (controle), após 48 h de exposição contra células tumorais humanas.

# PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTITUMORAL DE *HIBISCUS SABDARIFFA* L. CULTIVADA COM ADUBAÇÃO ORGÂNICA

## RESUMO GERAL

RAMOS, Diovany Doffinger. Universidade Federal da Grande Dourados, Dezembro de 2011. **Produção de biomassa e atividade antioxidante e antitumoral de *Hibiscus sabdariffa* L. cultivada com adubação orgânica.** Orientadora: Maria do Carmo Vieira.

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L., Malvaceae) é uma planta medicinal com diversos usos e benefícios, cujos cálices são ricos em substâncias com atividade antioxidante e antitumoral. É cultivada em diversas regiões de mundo e o caule é fonte de fibras para indústria têxtil e de papel. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da cama-de-frango semidecomposta e do organosuper<sup>®</sup> sob três modos de aplicação na produção de biomassa, nos teores de nutrientes nas folhas de plantas de rosela, teores de fenóis e flavonóides, atividade antioxidante e atividade antitumoral do extrato metanólico de folhas e cálices em nove linhagens de células humanas. Para tanto, foram desenvolvidos dois experimentos com a rosela, sendo um no ano agrícola de 2008/2009 e o outro no de 2009/2010. Os tratamentos em cada ciclo de cultivo foram arrançados como fatorial 2 x 3+1, sendo constituídos pelas combinações de dois compostos orgânicos [cama-de-frango (10 t ha<sup>-1</sup>) e organosuper<sup>®</sup> (10 t ha<sup>-1</sup>)] e três modos de aplicação (cobertura, incorporada e cobertura + incorporada) mais a testemunha, no delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro repetições. Foram determinados as produções de massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar e fibras no caule, teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, ferro, cobre, manganês e zinco nas folhas, teores de fenóis e flavonoides no extrato metanólico de folhas e cálices, atividade antioxidante e antitumoral no extrato metanólico de folhas e cálices. As maiores produções de massas frescas e secas de cálices, folhas, caules e raízes, número de cálices, área foliar e fibras no ano agrícola 2008/2009 foram obtidas com a cama-de-frango. O modo de aplicação dos resíduos orgânicos não diferiu estatisticamente para nenhuma das características avaliadas nos dois anos agrícolas, exceto para as produções de massas frescas e secas de cálices e número de cálices para o ano agrícola 2009/2010. Os teores de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn na massa seca das folhas da rosela não foram influenciados pelos resíduos orgânicos nem pelo modo de aplicação. Os maiores conteúdos de fenóis e flavonóides foram observados no extrato metanólico das folhas e cálices das plantas cultivadas com organosuper<sup>®</sup> incorporado. A IC<sub>50</sub> média demonstrou que folhas (43,48 µg mL<sup>-1</sup>) e cálices (37,15 µg mL<sup>-1</sup>) têm substâncias que podem contribuir para a capacidade sequestradora de radicais livres, comparado com o controle positivo BHT (16,7 µg mL<sup>-1</sup>). Além disso, o extrato metanólico de cálices apresentou significativa atividade seletiva para linhagem de células leucêmicas (K-562), concentração dependente, efeito citotóxico e citocida. Nas condições em que foi conduzido o experimento, concluiu-se que para obter maiores produções de biomassa as plantas de rosela devem ser cultivadas com cama-de-frango semidecomposta,

independente da forma de adição do resíduo. A cama-de-frango semidecomposta e o organosuper<sup>®</sup> incorporados proporcionaram os maiores teores de fenóis e flavonóides no extrato metanólico de folhas e cálices da rosela, além de, potencializar a atividade do extrato metanólico de cálices da rosela para a linhagem de células leucêmicas (K-562), com valores de IC<sub>50</sub> 1,16 e 0,12 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

**Palavras-chave:** cama-de-frango, organosuper<sup>®</sup>, compostos fenólicos, DPPH

**BIOMASS PRODUCTION AND ANTIOXIDANT AND ANTITUMOR  
ACTIVITY OF *HIBISCUS SABDARIFFA* L. CULTIVATED WITH  
ORGANIC FERTILIZER**

**ABSTRACT**

RAMOS, Diovany Doffinger. Federal University of Grande Dourados, December 2011. **Biomass production and antioxidant and antitumor activity of *Hibiscus sabdariffa* L. cultivated with organic fertilizer.** Advisor: Maria do Carmo Vieira.

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L., Malvaceae) is a medicinal plant with several uses and benefits, grown in different regions of the world, the stem is a source of fibers for textile and paper industry and calyxes are rich in substances with antioxidant activity and antitumor. The aim of this work was to evaluate the effect of poultry litter and organosuper<sup>®</sup> under three application modes in the biomass production and nutrient content in leaves, phenol and flavonoids content, antioxidant and antitumor activity of nine human cell lines in the methanol extract of leaves and calyxes. To this end, two experiments were performed with roselle: one in the agricultural year of 2008/2009 and another in 2009/2010. Treatments in each crop cycle were arranged in a factorial 2 x 3+1, being composed of combinations of two organic compounds poultry litter (10 t ha<sup>-1</sup>) and organosuper<sup>®</sup> (10 t ha<sup>-1</sup>) and three application modes (surface, incorporated and surface + incorporated) plus the control, in randomized block design with four replicates. The fresh and dry weight production of the leaves, stems, roots and calyxes, number of calyxes, leaf area and percentage of crude fiber in the stems, nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, iron, copper, manganese and zinc concentrations, concentrations of phenol and flavonoids in methanol extract of leaves and calyxes, antioxidant and anticancer property in methanol extract of leaves and calyxes were determined. Higher productions of fresh and dry weight of calyx, leaves, stems and roots, calyxes number, leaf area and fibers in the agricultural year 2008/2009 obtained with the poultry litter. Application mode of organic waste was not statistically different for any of the characteristics evaluated in two agricultural years. Leaves Nutrients contents were not affected by organic waste or by application mode. The highest contents of phenol and flavonoids were observed in leaf extract and calyxes of plants cultivated with organosuper<sup>®</sup> incorporated. The IC<sub>50</sub> average demonstrated that leaves (43,48 µg mL<sup>-1</sup>) and calyxes (37,15 µg mL<sup>-1</sup>) have substances that may contribute to free radical scavenging action, compared to positive control BHT (16.7 µg mL<sup>-1</sup>). Furthermore, the methanol extract of calyxes showed significant selective activity for leukemia lineage (K-562), concentration dependent, cytotoxic and cytocide effects. Under the conditions of the experiment was conducted, it was concluded that to obtain higher yields of biomass plants should be grown rosella with poultry litter semidecomposta, independently of the application of the residue. The incorporated poultry litter semidecomposta and organosuper<sup>®</sup> provided the highest concentrations of phenols and flavonoids in methanolic extract of leaves and calyxes of rosella, as well as, enhance the activity of the methanol extract of calyxes of rosella for leukemic cell line (K -562), with IC<sub>50</sub> values of 1.16 and 0.12 mg mL<sup>-1</sup>, respectively.

**Keywords:** poultry litter, organosuper<sup>®</sup>, phenolic compound, DPPH

## INTRODUÇÃO GERAL

A crescente demanda por produtos orgânicos faz parte de uma tendência mundial de mudança de valores, que se baseiam em maior preocupação com a qualidade de vida, o meio ambiente e a sociedade. Essa crescente demanda é alimentada em parte pela mídia, incluindo informações publicadas em livros, jornais e revistas que se dedicam à relação entre dieta e saúde. Na última década, esta tendência tem contribuído para criar um enorme mercado global em ervas e plantas com um aumento anual de 6,6% (ANÔNIMO, 2011). Em geral, a oferta de produtos orgânicos em todo mundo é limitada, quando comparado com a agricultura convencional.

A qualidade das plantas medicinais é dependente do manejo na produção e pós-colheita empregados. A quantidade de fitoquímicos ativos é um importante aspecto que influencia na qualidade; assim, a otimização desses fitoconstituintes durante o processo de produção é um fator chave para a obtenção de produtos com melhores propriedades funcionais.

*Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) foi introduzida no Brasil pelos escravos e é popularmente conhecida como rosela, vinagreira, pampola, pampulha, flor da jamaica, azedinha, caruru-azedo, caruru-da-guiné, quiabo-azedo, quiabo-roxo, entre outros (PANIZZA, 1997). A rosela também é cultivada na África, Ásia e América Central (ALI et al., 2005). O interesse econômico reside principalmente nos cálices secos, que são utilizados em todo mundo para produção de chás, geléias, molhos, vinhos, conservas e corantes alimentares naturais devido à presença das antocianinas (D'HEUREUX-CALIX e BADRIE, 2004). Muitas são as pesquisas associando benefícios na saúde com o consumo de produtos derivados da rosela. As antocianinas e o ácido protocatecuico de rosela apresentaram forte atividade antioxidante (LEE et al., 2002) e efeito antitumoral contra células humanas leucêmicas e células do carcinoma gástrico (LIN et al., 2005; CHANG et al., 2005).

A produção de cálices de rosela de qualidade em países em desenvolvimento está se tornando importante atividade de geração de renda em benefício das comunidades rurais (JULIAN et al., 2009). No México, o cultivo de rosela foi introduzido por produtores do estado de Veracruz devido a perdas com o cultivo da banana (FLORES et al., 2005).

Em função da necessidade de estudar tratos culturais para a rosela, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da adubação orgânica na produção de biomassa e de substâncias naturais presentes na rosela. Para tanto, o estudo foi organizado em dois artigos complementares. No primeiro, foi avaliado o efeito de dois resíduos orgânicos (cama-de-frango semidecomposta e organosuper), ambos de fácil acesso a produtores do Estado de Mato Grosso do Sul) e seu modo de aplicação na produção de raízes, caules (fibras), folhas e cálices, e teores de nutrientes em folhas de plantas da rosela. No segundo artigo, foi avaliada a influência desses mesmos resíduos nos teores de fenóis, flavonóides, na atividade antioxidante e na atividade antitumoral *in vitro* dos extratos metanólicos das folhas e cálices de rosela.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALI, B. H.; WABEL, N. A.; BLUNDEN, G. Phytochemical and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L. **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 369–75, 2005.

ANÔNIMO. **Herbal medicine market to top us\$ 26 bil. in 2011**. Taipei, Taiwan. The China post. 02 May, 2011.

CHANG, Y. C.; HUANG, H. P.; HSU, J. D.; YANG, S. F.; WANG, C. J. Hibiscus anthocyanins rich extract-induced apoptotic cell death in human promyelocytic leukemia cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 205, p. 201-212, 2005.

D'HEUREUX-CALIX, F.; BADRIE, N. Consumer acceptance and physicochemical quality of processed red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) sauces from enzymatic extracted calyces. **Food Serv. Technology**, v. 14, p. 141-148, 2004.

FLORES, J. R. T.; GONZÁLEZ, A. P.; AMAYA, J. C.; RAMÍREZ, J. L. M.; RUVALCABA, R. R.; SALAS, J. F. C. In: **XVI Semana de la investigación científica**. Niveles de fertilización orgánica mediante vermicomposta en el cultivo de la jamaica. 193-197 p. 2005.

JULIANI, H. R.; WELCH, C. R.; WU, Q.; DIOUF, B.; MALAINY, D.; SIMON, J. E. Chemistry and quality of Hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) for developing the natural-product industry in Senegal. **Journal of Food Science**, v. 74, p. 113-121, 2009.

LEE, M. J.; CHOU, F. P.; TSENG, T. H.; HSIEH, M. H.; LIN, M. C.; WANG, C. J. Hibiscus protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion or nitric oxide donor. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 2130-2136, 2002.

LIN, H. H.; HUANG, H. P.; HUANG, C. C.; CHEN, J. H.; WANG, C. J. Hibiscus polyphenol-rich extract induces apoptosis in human gastric carcinoma cells via p53 phosphorylation and p38 MAPK/FasL cascade pathway. **Molecular Carcinogenesis**, v. 43, p. 86-99, 2005.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. 20. ed., IBRASA, São Paulo, 1997, 193 p.

**ARTIGO 1****PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE NUTRIENTES DE ROSELA  
CULTIVADA COM CAMA-DE-FRANGO E ORGANOSUPER®**

## PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE NUTRIENTES DE ROSELA CULTIVADA COM CAMA-DE-FRANGO E ORGANOSUPER®

### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da cama-de-frango e do organosuper® sob três modos de aplicação na produção de biomassa e nos teores de nutrientes nas folhas de plantas de rosela. Os tratamentos em cada ciclo de cultivo foram arranjos como fatorial 2 x 3+1, sendo constituídos pelas combinações de dois compostos orgânicos cama-de-frango (10 t ha<sup>-1</sup>) e organosuper® (10 t ha<sup>-1</sup>) e três modos de aplicação (cobertura, incorporada e cobertura + incorporada) mais a testemunha, no delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições. As maiores produções de massas frescas e secas de cálices e o número de cálices foram obtidos para cama-de-frango em cobertura (10.776, 1.239 e 3.980.602 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) e organosuper® incorporado (11.372, 1.308 e 4.405.075 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) no ano agrícola 2009/2010. As maiores produções de massas frescas e secas de cálices, folhas, caules e raízes, número de cálices, área foliar e fibras no ano agrícola 2008/2009 foram obtidas com a cama-de-frango. Os teores de nutrientes não foram influenciados pelos resíduos orgânicos nem pelo modo de aplicação.

**Palavras-chave:** *Hibiscus sabdariffa*, resíduo orgânico, cobertura, incorporado.

## BIOMASS PRODUCTION AND NUTRIENT CONTENT IN ROSELLE LEAVES GROWN WITH POULTRY LITTER AND ORGANOSUPER

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of poultry litter and Organosuper<sup>®</sup> with three modes of application on the biomass production and nutrient content of the leaves of roselle plants. The treatments in each crop cycle were in a factorial arrangement, 2 x 3+1, composed of a control and combinations of the two organic fertilizers (poultry litter (10 t ha<sup>-1</sup>) and Organosuper<sup>®</sup> (10 t ha<sup>-1</sup>) and the three application modes (surface, incorporated and surface + incorporated), in a randomized block design with four replicates. In the surface + incorporated mode, the organic fertilizers were applied as 5 t ha<sup>-1</sup> surface and 5 t ha<sup>-1</sup> incorporated. The highest productions of fresh and dry weight and number of calyxes were obtained for poultry litter in surface (10,776, 1,239 and 3,980602 kg ha<sup>-1</sup>, respectively) and organosuper<sup>®</sup> incorporated (11,372, 1,308 and 4,405075 kg ha<sup>-1</sup>, respectively) in the agricultural year 2009/2010. The increases in the fresh and dry weights of the calyxes, leaves, stems and roots, number of calyxes, leaf area and fibers in the agricultural year 2008/2009 in the poultry litter treatments. Nutrients concentrations in the dry weight of the roselle leaves were not affected by the organic fertilizer type or by the mode of application.

**Keywords:** *Hibiscus sabdariffa*, organic fertilizer, surface, incorporated.

## 1 INTRODUÇÃO

A rosela (*Hibiscus sabdariffa* L., Malvaceae) é originária da Índia, do Sudão e da Malásia e foi introduzida na África Oriental e países das Américas Central e do Sul. No Brasil, está adaptada a várias regiões sendo encontrada em jardins residenciais. Suas folhas e frutos são amplamente utilizados na alimentação humana e de animais e os caules são fonte de fibras para a indústria de tecido e papel. É importante fonte de vitaminas A, B e C, ferro, fósforo e proteínas, podendo substituir a proteína animal. O cálice é utilizado no preparo de geléias, pastas, doces, xaropes e vinhos, e com o resíduo da fabricação é produzido vinagre (CHANG et al., 2003; FAGBENRO, 2005; OTTAI et al., 2006; MUKHTAR, 2007).

A rosela está adaptada a climas mais quentes, a temperatura ótima é de 25 °C, e a precipitação de 400-500 mm ao longo do período vegetativo (4-5 meses). Devido ao seu fotoperíodo crítico de cerca de 12 horas, o cultivo da rosela é limitado às regiões com longitude geográfica abaixo de 25° (MORTON, 1987). Para o cultivo orgânico da rosela, recomendações especiais de fertilizantes não são necessárias para a cultura, no entanto, um enriquecimento da fertilidade do solo deve ocorrer em todo o sistema (NATURLAND, 2000).

Em solos tropicais altamente intemperizados, a matéria orgânica tem grande importância no fornecimento de nutrientes às culturas, retenção de cátions, complexação de elementos tóxicos e de micronutrientes (FRANCHINI et al., 2001; SIQUEIRA NETO et al., 2009), estabilidade da estrutura (SALTON et al., 2008), infiltração e retenção de água, aeração e atividade microbiana, constituindo-se em componente fundamental da sua capacidade produtiva. Para que o resíduo orgânico adicionado ao solo possa fornecer nutrientes às plantas, é preciso que ele seja decomposto pelos microrganismos do solo, e que os nutrientes retidos em suas estruturas orgânicas sejam liberados (mineralizados). Esse processo de mineralização é influenciado pela quantidade e qualidade do material orgânico e pelas condições ambientais de temperatura, umidade, aeração e acidez (RASSE et al., 2005).

Nesse sentido, as práticas de manejo afetam diversos atributos do solo, como o teor de matéria orgânica, pH, disponibilidade de água, entre outros, além de afetar a taxa de decomposição dos resíduos orgânicos. Isso porque, o manejo adotado afeta o tamanho das partículas dos resíduos e a sua localização no solo (em superfície

ou incorporados), a disponibilidade de N para a decomposição pode limitar localmente a população e atividade dos microrganismos decompositores, em função do contato deficiente dos resíduos com o solo (POTTHOFF et al., 2005; GIACOMINI et al., 2008).

A cama-de-frango é um resíduo orgânico de baixo custo que, pela sua composição química, vem sendo muito utilizada para suprir os nutrientes requeridos pelas plantas (SANTOS et al., 2004). É resultado do conjunto de maravalha, casca de arroz e palhadas, mas os conteúdos poderão variar dependendo do manejo, composição da alimentação e desperdício dos comedouros e bebedouros das aves. O sistema produtivo brasileiro de frango permite a reutilização da cama com variação de uma a oito criadas. Assim, deve-se atentar com a qualidade da cama a ser utilizada a fim de se alcançar os objetivos quanto à reposição de nutrientes nas mais variadas culturas (KONZEN; ALVARENGA, 2006). Segundo o Avisite (2011), foram produzidos 137.800.000 frangos no Estado do Mato Grosso do Sul em 2009. Cada oito ciclos (45 - 60 dias cada) são gerados 3,4 kg de resíduo por frango. Com base nestes dados calcula-se que foram produzidos 58.565 t de cama-de-frango semidecomposta em 2009.

O organosuper<sup>®</sup> é um resíduo orgânico multinutriente, sendo produzido graças a um bioextrato único no mercado. A sua fórmula de compostagem, realizada em torno de 15 dias, gera temperaturas de até 100 °C por mais de 24h ininterruptas, garantindo a esterilização do produto, que se apresenta livre de agentes patogênicos, sementes e outros resíduos indesejáveis para a adubação. As unidades Organoeste de Dourados-MS e Andradina - SP obtiveram recentemente a certificação nacional e internacional de seus produtos pela ECOCERT BRASIL, certificadora de produtos orgânicos reconhecida pela agência nacional francesa COFRAC, segundo o guia ISO 65, nos termos da instrução normativa nº 46 de 6 de outubro de 2011 do Ministério da Agricultura do Brasil.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da cama-de-frango semidecomposta e do organosuper<sup>®</sup> sob três modos de aplicação na produção de biomassa e nos teores de nutrientes nas folhas de plantas de rosela.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

No Horto de Plantas Medicinais - HPM, da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados-MS, foram desenvolvidos dois experimentos com a rosela, sendo um no ano agrícola de 2008/2009 e o outro no de 2009/2010. As áreas localizaram-se ao Sul do Estado de Mato Grosso do Sul, com altitude média de 452 m; latitude  $22^{\circ}11'44''$  S e longitude  $54^{\circ}56'09''$  W. O clima, segundo a classificação de Köppen é do tipo Cwa. As precipitações totais, umidade relativa do ar e temperaturas máximas e mínimas (médias por decêndios), registradas em Dourados durante o período de realização dos experimentos são apresentadas na Figura 1.

O solo, originalmente sob vegetação de Cerrado, é um Latossolo Vermelho Distroférico, de textura muito argilosa, de topografia plana. Os atributos do solo, antes do transplante e após a colheita, assim como as da cama-de-frango e do organosuper<sup>®</sup> utilizado são apresentadas na Tabela 1.

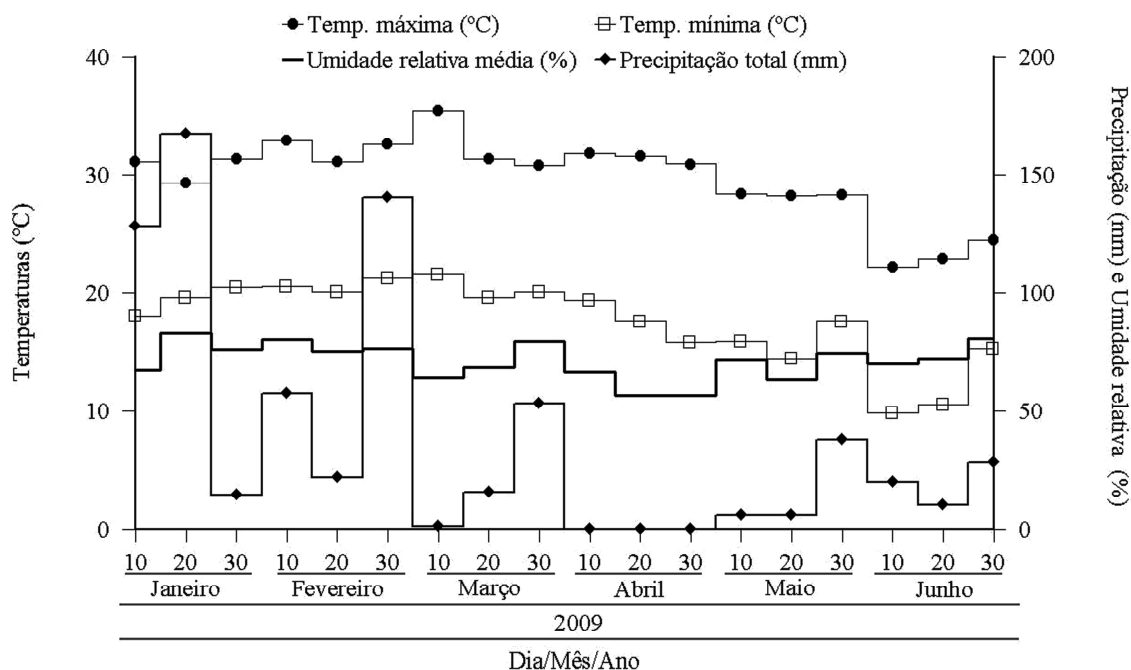


FIGURA 1. Precipitações totais, umidade relativa do ar e temperaturas máximas e mínimas (médias por decêndios), registradas em Dourados durante o período de realização dos experimentos. Dourados - UFGD, 2009/2010.

Os tratamentos em cada ciclo de cultivo foram arranjados como fatorial  $2 \times 3+1$ , sendo constituídos pelas combinações de dois compostos orgânicos [cama-de-frango semidecomposta ( $10 \text{ t ha}^{-1}$ ) e organosuper<sup>®</sup> ( $10 \text{ t ha}^{-1}$ )] e três formas de aplicação (cobertura, incorporada e cobertura + incorporada) mais a testemunha, no delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro repetições. Na forma cobertura + incorporada foram aplicadas  $5 \text{ t ha}^{-1} + 5 \text{ t ha}^{-1}$ , respectivamente. Com o intuito de comparar a testemunha frente à cama-de-frango semidecomposta e ao organosuper<sup>®</sup>, realizaram-se os seguintes contrastes:  $C_1 = [(cama-de-frango \text{ incorporada} + cama-de-frango \text{ em cobertura} + cama-de-frango \text{ incorporada/cobertura})/3 - \text{testemunha}]$  e  $C_2 = [(organosuper \text{ incorporado} + organosuper \text{ em cobertura} + organosuper \text{ incorporada/cobertura})/3 - \text{testemunha}]$ .



TABELA 1. Análise química das amostras de solo, colhidas na área do experimento, antes do transplante e após a colheita da rosela e análise da cama-de-frango e do organosuper®. UFGD, Dourados, MS, 2008/2009 e 2009/2010.

Ano agrícola 2008/2009								
Atributos do solo <sup>1</sup>	Antes transp.	Após a colheita						
		Test.	Cama-de-frango			Organosuper®		
			Inc.	Cob.	Cob./Inc.	Inc.	Cob.	Cob./Inc.
pH em CaCl <sub>2</sub> (1:2,5)	4,6	5,1	4,8	4,0	4,8	4,3	5,0	4,8
pH em água (1:2,5)	4,7	5,5	5,3	5,5	5,1	5,5	5,8	5,1
Al <sup>+3</sup> (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	5,1	4,3	3,1	3,1	4,3	1,8	4,3	4,3
P (mg dm <sup>-3</sup> )	12,0	13,0	30,0	56,0	38,0	25,0	22,0	38,0
K (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,3	3,6	3,8	8,0	7,0	2,8	2,9	7,0
Mg (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	15,0	26,0	25,0	27,0	24,0	25,0	34,0	24,0
Ca (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	26,9	28,4	37,0	40,0	35,0	41,0	52,0	35,0
Matéria orgânica (g dm <sup>-3</sup> )	21,3	21,7	34,5	32,5	32,9	35,1	34,6	33,8
Acid. pot. (H+Al)(mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	62,0	55,0	80,0	55,0	69,0	55,0	58,0	69,0
Soma de bases (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	64,2	65,6	65,8	75,0	66,0	68,8	88,9	66,0
(CTC) (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	124,2	120,6	145,8	130,0	135,0	123,8	146,9	135,0
Saturação de bases (V) %	48,0	54,0	45,0	57,0	48,0	55,0	60,0	48,0
Ano agrícola 2009/2010								
pH em CaCl <sub>2</sub> (1:2,5)	4,7	4,9	4,7	4,7	4,5	4,7	4,8	4,7
pH em água (1:2,5)	5,1	5,5	5,1	5,1	5,0	5,2	5,1	5,2
Al <sup>+3</sup> (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	5,5	5,2	3,1	1,8	3,7	3,1	3,1	3,1
P (mg dm <sup>-3</sup> )	10,9	13,1	26,0	37,0	25,0	16,0	16,0	15,0
K (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,4	2,7	3,7	3,4	3,5	2,6	2,5	2,4
Mg (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	17,1	17,7	19,4	20,7	19,2	18,5	19,0	17,5
Ca (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	23,7	24,3	25,7	27,6	25,5	26,9	26,7	26,0
Matéria orgânica (g dm <sup>-3</sup> )	20,3	21,5	24,9	25,4	26,1	27,6	25,8	28,9
Acid. pot. (H+Al)(mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	65,0	56,0	65,0	58,0	69,0	55,0	55,0	62,0
Soma de bases (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	44,1	43,7	48,8	51,7	48,2	48,0	48,2	45,9
(CTC) (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	109,1	104,9	113,8	109,7	117,2	103,0	103,2	107,9
Saturação de bases (V) %	40,0	44,0	48,8	51,7	48,2	48,0	48,2	45,9
Atributos dos resíduos orgânicos <sup>2</sup>			Cama-de-frango 2008/2009	Cama-de-frango 2009/2010	Organosuper®			
Umidade total			21,81	20,74	21,24			
Matéria Orgânica total (%)			43,35	52,66	47,43			
C total (%)			24,08	22,06	26,35			
Densidade (mg cm <sup>-3</sup> )			0,55	0,64	0,52			
pH (%)			8,22	7,14	7,98			
Ca (%)			4,37	6,21	8,09			
Mg (%)			1,17	1,03	0,35			
K (%)			0,85	0,18	1,43			
N (%)			3,15	2,52	3,48			
P (%)			3,07	1,07	3,91			
C/N			7,64	8,75	7,57			

<sup>1/</sup> Análises feitas no laboratório de solos da FCA – UFGD; <sup>2/</sup> Walkley & Black; <sup>3/</sup> Extrator Mehlich – 1; <sup>4/</sup> Extrator KCL 1 N; <sup>5/</sup> Análises feitas no laboratório de matéria orgânica e resíduos, da UFV. Antes transp. = antes transplante, test.= testemunha, Inc.= incorporado, Cob.= cobertura e Inc.+ Cob.= incorporado + cobertura.

As parcelas tiveram área total de 6,0 m<sup>2</sup> (1,5 m de largura x 4,0 m de comprimento) e área útil de 4,0 m<sup>2</sup> (1,0 m de largura e 4,0 m de comprimento). As plantas foram cultivadas em fileiras duplas nos canteiros, no espaçamento de 0,80 m entre plantas e 0,70 m entre linhas, perfazendo 16.500 plantas ha<sup>-1</sup>. Ao redor de todo o experimento foram cultivadas duas linhas de plantas, com o mesmo espaçamento, como bordadura. As plantas foram obtidas por sementeira indireta, iniciadas em 14/12/2008 e 20/11/2009 para os anos agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente, utilizando-se sementes colhidas de plantas cultivadas no HPM da UFGD. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno de 128 células, com substrato Plantmax<sup>®</sup>, mantidas em ambiente protegido com sombrite<sup>®</sup> 50%, com irrigações diárias. Quando as plântulas atingiram cerca de 10 cm de altura foram transplantadas para o local definitivo, em 24/01/2009 e 27/12/2009 para os anos agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente.

O solo para os experimentos foi preparado uma semana antes do transplante, fazendo-se gradagem e levantamento de canteiros com duas passagens do rotoencanteirador. Na segunda passagem do implemento, foi incorporada a cama-de-frango semidecomposta e o organosuper<sup>®</sup> nos tratamentos correspondentes; imediatamente após o transplante, a cama-de-frango e o organosuper<sup>®</sup> foram distribuídos a lanço, nas parcelas correspondentes. Não foram realizadas calagem nem adubação de base. Os tratos culturais na fase de campo compreenderam irrigações utilizando o sistema de aspersão até 60 DAT, a cada dois dias e capinas manuais. Quando as plantas começaram a florescer, aos 89 e 95 DAT, para os anos agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente, foram colhidas quatro plantas de cada parcela, arrancando-as inteiras. Após, foram separados os caules e as folhas para determinação da área foliar com integrador de área foliar LI 3000 e as massas frescas e secas. Das plantas remanescentes de cada parcela foram feitas duas colheitas dos cálices aos 119 e 158 DAT para o ano agrícola 2008/2009 e 139 e 185 DAT para o ano agrícola 2009/2010, usando como indicativo do ponto de colheita o comprimento dos cálices, com aproximadamente 3,5 cm. A colheita foi manual, utilizando-se tesoura de poda para cortar os pedúnculos logo abaixo dos cálices. Os cálices foram contados e pesados e após a última colheita totalizaram-se o número e a massa fresca.

Para a obtenção da massa seca, os materiais frescos dos cálices, folhas, caules e raízes foram seccionados separadamente e distribuídos em sacos de papel.

Posteriormente, os sacos foram colocados em estufa com circulação forçada de ar, a  $60^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , até massa constante.

Do material seco das folhas e cálices foram determinados os teores de P pelo método da colorimetria de molibdovanadato; os de K, por fotometria de chama e os de Ca, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn por espectrometria de absorção atômica. Para determinação de N total, as amostras foram submetidas à digestão sulfúrica e N dosado por meio de destilação Kjeldahl (MALAVOLTA et al., 1997). O teor de fibras foi determinado por meio da percentagem de fibra bruta, segundo a metodologia descrita pela AOAC (1995), enquanto a quantidade de fibras em  $\text{kg ha}^{-1}$ , pela expressão:  $(\% \text{ fibras} \times \text{massa fresca de caules})/100$ .

Foram realizadas análises de variância individuais e conjuntas dos experimentos para cada característica. Aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação entre médias e Dunnett para comparação de cada um dos tratamentos com a testemunha. Seguiu-se o teste t para comparação de contraste. Análise de contrastes foi realizada para separar tratamentos específicos e também foram discutidas tendências e estabilidade destes contrastes. Utilizou-se, para todas as análises, o programa computacional SAEG (RIBEIRO JÚNIOR; DE MELO, 2008).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise de variância conjunta dos experimentos verificou-se que houve interação significativa dos tratamentos e anos para as características massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar e fibras e, por isso, foram realizadas análises individuais dos experimentos para essas características. Para os teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, ferro, cobre, manganês e zinco não houve interação significativa e, em razão disso, as comparações entre resíduo orgânico, modo de aplicação e testemunha, na análise conjunta dos experimentos, foram realizadas a partir dos valores médios dos dois anos.

Provavelmente, as maiores produções de massas frescas e secas de cálices, folhas e caules, número de cálices e área foliar obtidas no ano agrícola 2009/2010 estejam relacionadas ao fotoperíodo, uma vez que, o transplante das mudas para o local definitivo ocorreu em 24/01/2009 e 27/12/2009 para os anos agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente. De acordo com Castro et al. (2004) a produtividade de cálices de rosela cultivada em Lavras – MG, diferiu com a época de plantio, das quatro épocas de plantio avaliadas (18 de outubro; 15 de novembro; 18 de dezembro de 2001 e 15 de janeiro de 2002) a de outubro foi a que apresentou o melhor resultado, com produção de 2.522 kg ha<sup>-1</sup> de cálices. Além disso, as maiores precipitações que ocorreram nos meses de março (125 mm), abril (56 mm) e maio (169 mm) do ano agrícola 2009/2010, comparadas com as menores precipitações nos meses de março (70 mm), abril (0 mm) e maio (49 mm) para o ano 2008/2009, além da boa distribuição das chuvas, também favoreceram as maiores produções de massas frescas e secas de cálices, folhas e caules, número de cálices e área foliar.

As massas frescas e secas e o número de cálices foram influenciados significativamente pela interação resíduos orgânicos e modo de aplicação, no ano agrícola 2009/2010, com as maiores produções obtidas para cama-de-frango em cobertura e organosuper<sup>®</sup> incorporado (Tabela 2). As produções de massas frescas e secas e número de cálices foram superiores à testemunha para todos os tratamentos estudados, exceto, para organosuper<sup>®</sup> em cobertura no ano 2009/2010 (Tabela 3). Esses resultados mostram que tanto a cama-de-frango semidecomposta quanto organosuper<sup>®</sup> devem ter fornecido produtos orgânicos minerais, dentre eles o P e o K (Tabela 1). Em consequência do aumento da atividade dos processos microbianos no solo, fomentando,

simultaneamente, mudanças na aeração e na capacidade de retenção de água (HEREDIA ZÁRATE et al., 2002), em resposta à decomposição orgânica, favorecendo o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

TABELA 2. Massas frescas e secas e número de cálices de plantas da rosela cultivadas sob duas fontes de adubação orgânica e três formas de aplicação, no ano agrícola 2009/2010. UFGD, Dourados, MS.

Resíduo orgânico	Massa fresca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )		
	Incorporada	Cobertura	Inc.+ Cob.
Cama-de-frango	8.136 bB	10.776 aA	9.648 aAB
Organosuper <sup>®</sup>	11.372 aA	7.245 bB	10.768 aA
Massa seca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )			
Cama-de-frango	936 bB	1.239 aA	1.110 aAB
Organosuper <sup>®</sup>	1.308 aA	833 bB	1.238 aA
Número de cálice (milhões ha <sup>-1</sup> )			
Cama-de-frango	3.176.509 bB	3.980.602 aA	3.770.169 aAB
Organosuper <sup>®</sup>	4.405.075 aA	2.627.561 bB	4.205.940 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, para cada característica, não diferem entre si pelos testes F e Tukey, respectivamente, a 5% de probabilidade.

As produções de massas frescas e secas de folhas das plantas da rosela foram superiores à da testemunha para todos os tratamentos estudados, exceto, para organosuper<sup>®</sup> incorporado ou em cobertura no ano agrícola 2008/2009 (Tabela 3). As produções de massas frescas e secas das folhas foram 27,88% e 27,89%, respectivamente, maiores nas plantas cultivadas em solo com cama-de-frango em relação às cultivadas em solo com organosuper<sup>®</sup>, no ano agrícola 2008/2009 (Tabela 4). Com base no contraste 1, verificou-se que a cama-de-frango induziu aumentos de 4.744 kg ha<sup>-1</sup> e 7.409 kg ha<sup>-1</sup> de massa fresca de folhas e 698 kg ha<sup>-1</sup> e 1.091 kg ha<sup>-1</sup> de massa seca de folhas para os anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente; no entanto, o organosuper<sup>®</sup>, contraste 2, propiciou aumentos na produção de massa fresca e seca de folhas de 7.006 kg ha<sup>-1</sup> e 1.031 kg ha<sup>-1</sup>, apenas para o ano agrícola 2009/2010 (Tabela 4). Por outro lado, as massas frescas e secas das folhas não foram influenciadas significativamente pelos modos de aplicação dos resíduos orgânicos (Tabela 5).

As produções de massas frescas e secas dos caules das plantas da rosela de todos os tratamentos estudados, exceto para organosuper<sup>®</sup> incorporado ou em cobertura no ano agrícola 2008/2009 foram superiores à da testemunha (Tabela 3). As produções de massas frescas e secas dos caules foram 31,66% e 31,65%, respectivamente, maiores

nas plantas cultivadas em solo com cama-de-frango semidecomposta em relação às cultivadas em solo com organosuper<sup>®</sup>, no ano agrícola 2008/2009 (Tabela 4). Com base no contraste 1, verificou-se que a cama-de-frango semidecomposta induziu aumentos de 12.464 kg ha<sup>-1</sup> e 12.379 kg ha<sup>-1</sup> de massa fresca dos caules e 2.269 kg ha<sup>-1</sup> e 2.254 kg ha<sup>-1</sup> de massa seca para os anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente. O organosuper<sup>®</sup>, contraste 2, induziu aumentos de 3.354 kg ha<sup>-1</sup> e 10.575 kg ha<sup>-1</sup> de massa fresca dos caules e 611 kg ha<sup>-1</sup> e 1.925 kg ha<sup>-1</sup> de massa seca para os anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente. Por outro lado, as produções de massas frescas e secas dos caules não foram influenciadas significativamente pelos modos de aplicação dos resíduos orgânicos (Tabela 5).

As produções de massas frescas e secas das raízes das plantas da rosela foram superiores à da testemunha para todos os tratamentos estudados, exceto para organosuper<sup>®</sup> incorporado ou em cobertura no ano agrícola 2008/2009 (Tabela 3). As produções de massas frescas e secas das raízes foram 32,38% e 21,38%, respectivamente, maiores nas plantas cultivadas em solo com cama-de-frango semidecomposta em relação às cultivadas em solo com organosuper<sup>®</sup>, no ano agrícola 2008/2009 (Tabela 3). Com base no contraste 1, verificou-se que a cama-de-frango semidecomposta proporcionou aumentos de 798 kg ha<sup>-1</sup> e 276 kg ha<sup>-1</sup> de massa fresca das raízes e 176 kg ha<sup>-1</sup> e 82 kg ha<sup>-1</sup> de massa seca para os anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente; no entanto, o organosuper<sup>®</sup>, contraste 2, propiciou aumentos na produção de massa fresca e seca das raízes de 337 kg ha<sup>-1</sup> e 100 kg ha<sup>-1</sup>, apenas para o ano agrícola 2009/2010. Por outro lado, tal como para folhas e caules, as produções de massas frescas e secas das raízes não foram influenciadas significativamente pelos modos de aplicação dos resíduos orgânicos (Tabela 5).

As áreas foliares das plantas da rosela foram superiores à da testemunha para cama-de-frango semidecomposta incorporada, cama-de-frango semidecomposta em cobertura e cama-de-frango semidecomposta incorporada + cobertura no ano agrícola 2008/2009 e para todos os tratamentos estudados no ano agrícola 2009/2010 (Tabela 3). As áreas foliares foram 35,59% e 33,97% maiores nas plantas cultivadas em solo com cama-de-frango semidecomposta em relação às cultivadas em solo com organosuper<sup>®</sup>, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente (Tabela 4). Com base no contraste 1, verificou-se que a cama-de-frango semidecomposta proporcionou aumentos de 5.446 cm<sup>2</sup> e 8.096 cm<sup>2</sup> na área foliar para os anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente; no entanto, o organosuper<sup>®</sup>, contraste 2,

propiciou aumento na área foliar de 8.035 cm<sup>2</sup>, apenas para o ano agrícola 2009/2010. Por outro lado, a área foliar não foi influenciada significativamente pelos modos de aplicação dos resíduos orgânicos (Tabela 5).

TABELA 3. Massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar e fibras no caule de plantas da rosela cultivada sob duas fontes de adubação orgânica e três formas de aplicação mais a testemunha, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010. UFGD, Dourados, MS.

Resíduos orgânicos	Formas de aplicação	Massa fresca de folha (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de folha (kg ha <sup>-1</sup> )	
		2008/2009	2009/2010	2008/2009	2009/2010
Testemunha		7.581	11.962	1.115	1.760
Cama-de-frango	Incorporada	13.013*	20.222*	1.915*	2.976*
	Cobertura	12.270*	20.013*	1.806*	2.945*
	Inc.+ Cob.	11.692*	17.879*	1.721*	2.631*
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporada	8.744 <sup>ns</sup>	19.956*	1.287 <sup>ns</sup>	2.937*
	Cobertura	8.321 <sup>ns</sup>	19.397*	1.224 <sup>ns</sup>	2.855*
	Inc.+ Cob.	9.603*	17.553*	1.413*	2.583*
C.V. (%)		11,16	8,48	11,16	8,48
		Massa fresca de caule (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de caule (kg ha <sup>-1</sup> )	
Testemunha		16.306	14.128	2.969	2.572
Cama-de-frango	Incorporada	30.185*	29.018*	5.496*	5.283*
	Cobertura	28.349*	26.969*	5.162*	4.910*
	Inc.+ Cob.	27.777*	23.537*	5.057*	4.285*
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporada	19.690 <sup>ns</sup>	25.632*	3.585 <sup>ns</sup>	4.667*
	Cobertura	18.323 <sup>ns</sup>	25.877*	3.336 <sup>ns</sup>	4.711*
	Inc.+ Cob.	20.970*	22.601*	3.818*	4.115*
C.V. (%)		11,24	12,62	11,23	12,60
		Massa fresca de raiz (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de raiz (kg ha <sup>-1</sup> )	
Testemunha		1.185	727	363	216
Cama-de-frango	Incorporada	2.038*	959 <sup>ns</sup>	531*	285 <sup>ns</sup>
	Cobertura	2.023*	1.003*	567*	298*
	Inc.+ Cob.	1.890*	1.045*	517*	311*
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporada	1.360 <sup>ns</sup>	1.122*	412 <sup>ns</sup>	333*
	Cobertura	1.197 <sup>ns</sup>	1.020*	358 <sup>ns</sup>	303*
	Inc.+ Cob.	1.467 <sup>ns</sup>	1.049*	500*	312*
C.V. (%)		10,59	14,54	11,45	14,54

		Massa fresca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )	
Testemunha		3.427	5.780	394	664
Cama-de-frango	Incorporada	3.914 <sup>ns</sup>	8.088*	438 <sup>ns</sup>	930*
	Cobertura	4.730 <sup>ns</sup>	10.30*	529 <sup>ns</sup>	1.185*
	Inc.+ Cob.	5.464*	9.64*	612*	1.109*
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporada	2.908 <sup>ns</sup>	11.3*	334 <sup>ns</sup>	1.307*
	Cobertura	3.132 <sup>ns</sup>	6.741 <sup>ns</sup>	360 <sup>ns</sup>	775 <sup>ns</sup>
	Inc.+ Cob.	3.046 <sup>ns</sup>	10.768*	350 <sup>ns</sup>	1.238*
C.V. (%)		24,24	9,83	24,07	9,82
		Número de cálice (milhões ha <sup>-1</sup> )		Área foliar (cm <sup>2</sup> )	
Testemunha		41.488.740	42.252.693	9.853	15.580
Cama-de-frango	Incorporada	41.986.838 <sup>ns</sup>	43.176.508*	15.575*	23.242*
	Cobertura	42.031.278 <sup>ns</sup>	43.980.602*	15.526*	25.074*
	Inc.+ Cob.	42.463.642*	43.770.169*	14.795*	22.711*
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporada	41.297.092 <sup>ns</sup>	44.405.075*	11.385 <sup>ns</sup>	25.220*
	Cobertura	41.316.535 <sup>ns</sup>	42.627.561 <sup>ns</sup>	10.682 <sup>ns</sup>	23.500*
	Inc. + Cob.	41.416.525 <sup>ns</sup>	44.205.940*	12.152 <sup>ns</sup>	22.122*
C.V. (%)		22,15	10,97	10,60	10,14
		Fibras (kg ha <sup>-1</sup> )			
Testemunha		678	155		
Cama-de-frango	Incorporada	1.255*	286*		
	Cobertura	1.179*	269*		
	Inc.+ Cob.	1.155*	263*		
Organosuper <sup>®</sup>	Incorp	819 <sup>ns</sup>	187 <sup>ns</sup>		
	Cobert	762 <sup>ns</sup>	174 <sup>ns</sup>		
	Inc. + Cob.	872*	199*		
C.V. (%)		11,24	19,28		

\* ,<sup>ns</sup> diferença significativa e não significativa, respectivamente, quando comparado com a testemunha, a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

TABELA 4. Massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar, teor de fibras no caule de plantas da rosela cultivada sob duas fontes de resíduo orgânico, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010. UFGD, Dourados, MS.

Resíduos orgânicos	Massa fresca de folhas (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de folhas (kg ha <sup>-1</sup> )	
	2008/2009	2009/2010	2008/2009	2009/2010
Cama-de-frango	12.325 a	19.371 a	1.814 a	2.851 a
Organosuper <sup>®</sup>	8.889 b	18.968 a	1.308 b	2.792 a
Testemunha	7.581	11.962	1.116	1.760
C <sub>1</sub> = cf - test	4.744*	7.409*	698*	1.091*
C <sub>2</sub> = or - test	1.309 <sup>ns</sup>	7.006*	193 <sup>ns</sup>	1.031*



	Massa fresca de caule (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de caule (kg ha <sup>-1</sup> )	
Cama-de-frango	28.771 a	26.508 a	5.238 a	4.826 a
Organosuper <sup>®</sup>	19.661 b	24.703 a	3.580 b	4.498 a
Testemunha	16.307	14.128	2.969	2.572
C <sub>1</sub> = cf - test	12.464*	12.379*	2.269*	2.254*
C <sub>2</sub> = or - test	3.354 <sup>ns</sup>	10.575*	611 <sup>ns</sup>	1.925*
	Massa fresca de raiz (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de raiz (kg ha <sup>-1</sup> )	
Cama-de-frango	1.983 a	1.003 a	538 a	298 a
Organosuper <sup>®</sup>	1.341 b	1.064 a	423 b	316 a
Testemunha	1.188	727	363	216
C <sub>1</sub> = cf - test	798*	276*	176*	82*
C <sub>2</sub> = or - test	156 <sup>ns</sup>	337*	61 <sup>ns</sup>	100*
	Área foliar (cm <sup>2</sup> /planta)		Fibras (kg ha <sup>-1</sup> )	
Cama-de-frango	15.299 a	23.676 a	1.197 a	1.019 a
Organosuper <sup>®</sup>	11.406 b	23.614 a	818 b	1.004 a
Testemunha	9.853	15.580	678	635
C <sub>1</sub> = cf - test	5.446*	8.096*	519*	384*
C <sub>2</sub> = or - test	1.553 <sup>ns</sup>	8.035*	140 <sup>ns</sup>	369*
	Massa fresca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )	
Cama-de-frango	4.703 a	-	527 a	-
Organosuper <sup>®</sup>	3.029 b	-	348 b	-
Testemunha	3.427	-	394	-
C <sub>1</sub> = cf - test	1.276*	-	133*	-
C <sub>2</sub> = or - test	-398 <sup>ns</sup>	-	-46 <sup>ns</sup>	-
	Número de cálice (milhões ha <sup>-1</sup> )			
Cama-de-frango	2.160.586 a	-	-	-
Organosuper <sup>®</sup>	1.343.384 b	-	-	-
Testemunha	1.488.740	-	-	-
C <sub>1</sub> = cf - test	671.846*	-	-	-
C <sub>2</sub> = or - test	-145.356 <sup>ns</sup>	-	-	-

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste F. \*,<sup>ns</sup> Contrastes significativo e não significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade pelo teste t.

TABELA 5. Massas frescas e secas de folhas, caules, raízes e cálices, número de cálices, área foliar e fibras no caule das folhas de plantas da rosela cultivada sob três formas de aplicação dos resíduos orgânicos, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010. UFGD, Dourados, MS.

Formas de aplicação	Massa fresca de folha (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de folha (kg ha <sup>-1</sup> )	
	2008/2009	2009/2010	2008/2009	2009/2010
Incorporado	10.878 a	20.089 a	1.601 a	2.956 a
Cobertura	10.296 a	19.705 a	1.515 a	2.900 a
Inc.+ Cobert.	10.648 a	17.716 a	1.567 a	2.607 a

	Massa fresca de caule (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de caule (kg ha <sup>-1</sup> )	
Incorporado	24.938 a	27.325 a	4.540 a	4.975 a
Cobertura	23.336 a	26.423 a	4.249 a	4.811 a
Inc.+ Cobert.	24.373 a	23.069 a	4.437 a	4.200 a
	Massa fresca de raiz (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de raiz (kg ha <sup>-1</sup> )	
Incorporado	1.699 a	1.041 a	471 a	309 a
Cobertura	1.610 a	1.012 a	463 a	301 a
Inc.+ Cobert.	1.678 a	1.047 a	508 a	311 a
	Massa fresca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )		Massa seca de cálice (kg ha <sup>-1</sup> )	
Incorporado	3.412 a	-	386 a	-
Cobertura	3.932 a	-	445 a	-
Inc.+ Cobert.	4.255 a	-	481 a	-
	Número de cálices (milhões ha <sup>-1</sup> )		Área foliar (cm <sup>2</sup> )	
Incorporado	1.641.965 a	-	13.480 a	24.231 a
Cobertura	1.673.907 a	-	13.104 a	24.287 a
Inc.+ Cobert.	1.940.084 a	-	13.473 a	22.416 a
	Fibras (kg ha <sup>-1</sup> )			
Incorporado	1.037 a	1.062 a		
Cobertura	970 a	1.013 a		
Inc.+ Cobert.	1.014 a	959 a		

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

A produção de fibras das plantas da rosela de todos os tratamentos estudados, exceto para organosuper<sup>®</sup> incorporado ou em cobertura nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010 foram superiores à da testemunha (Tabela 3). A produção de fibras foi 31,66% maior nas plantas cultivadas em solo com cama-de-frango semidecomposta em relação às cultivadas em solo com organosuper<sup>®</sup>, no ano agrícola 2008/2009 (Tabela 4). Com base no contraste 1, verificou-se que a cama-de-frango semidecomposta induziu aumento de 519 kg ha<sup>-1</sup> de fibras no ano agrícola 2008/2009. O organosuper<sup>®</sup>, contraste 2, induziu aumentos de 140 kg ha<sup>-1</sup> e 369 kg ha<sup>-1</sup> de fibras para os anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente. Por outro lado, as produções de fibras não foram influenciadas significativamente pelos modos de aplicação dos resíduos orgânicos (Tabela 5).

As maiores produções de massas frescas e secas de cálices, folhas, caules e raízes, número de cálices, área foliar e fibras no ano agrícola 2008/2009 obtidas com a cama-de-frango semidecomposta aplicada ao solo provavelmente se deve à melhoria nas propriedades físicas do solo, aumento na retenção de água no solo e, portanto, maior disponibilidade de água para as plantas (KARAMANOS et al., 2004). Considerando as altas temperaturas médias máximas (29,7) e mínimas (17,6) registradas ao longo do

ciclo de cultivo da rosela, podemos inferir que, a umidade do solo com a cama-de-frango semidecomposta pôde ser mantida por mais tempo em períodos de distribuição irregular de chuvas (Figura 1), além de melhorar o status de nutrientes do solo (BLAISE et al., 2006). A cama-de-frango semidecomposta provavelmente tenha disponibilizado maiores quantidades de N, P e K na solução do solo para o crescimento e desenvolvimento das plantas, especialmente, considerando-se que aquela utilizada no ano agrícola 2008/2009 apresentava maiores teores desses nutrientes (3,15, 3,07 e 0,85% de N, P e K, respectivamente), quando comparada à utilizada no ano agrícola 2009/2010 (2,52, 1,07 e 0,18% de N, P e K, respectivamente). Singh et al. (2005) relataram que um aumento no suprimento de P resulta em aumento de solutos inorgânicos livres e ligados. Um efeito combinado de melhor estado nutricional e disponibilidade de água nas parcelas com cama-de-frango semidecomposta resultaram em maiores produtividades.

O modo de aplicação dos resíduos orgânicos não diferiu estatisticamente para nenhuma das características avaliadas nos dois anos agrícolas, exceto para as produções de massas frescas e secas de cálices e número de cálices para o ano agrícola 2009/2010. A magnitude do grau de contato para a decomposição dos resíduos orgânicos depende principalmente da relação C/N do material orgânico adicionado ao solo (RECOUS et al. 1995). Quanto mais pobres em N (elevada C/N) forem os resíduos orgânicos, maior será a influência desses dois fatores sobre a sua decomposição no solo, já que o N disponível e o contato dos resíduos orgânicos com o solo regulam a disponibilidade de N aos microrganismos que participam da sua decomposição. O grau de contato controla o fluxo de água e nutrientes, especialmente de  $\text{NO}_3^-$  dos agregados do solo até os sítios de decomposição do resíduo (GIACOMINI et al., 2008). Com base nessas informações, pode-se inferir que as relações C/N tanto da cama-de-frango semidecomposta como do organosuper<sup>®</sup>, por serem baixas (7,64 e 8,75 para a cama-de-frango semidecomposta nos anos agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente, e 7,57 para o organosuper<sup>®</sup>) (Tabela 1) não tiveram sua decomposição favorecida pela sua incorporação ao solo. É provável que a quantidade de N presente nos resíduos tenha atendido à demanda em N dos micro-organismos atuantes na decomposição dos constituintes carbonados dos mesmos. Além disso, o N proveniente da mineralização da matéria orgânica do solo também pode ter contribuído para complementar as necessidades microbianas relativas a esse nutriente.

Os teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) na massa seca das folhas da rosela não foram influenciados pelos resíduos orgânicos (Tabela 6) nem pelo modo de aplicação (Tabela 7). Os teores médios foram de 38,69 g kg<sup>-1</sup>; 0,90 g kg<sup>-1</sup>; 1,94 g kg<sup>-1</sup>; 12,88 g kg<sup>-1</sup>; 3,10 g kg<sup>-1</sup>; 1.694,00 mg kg<sup>-1</sup>; 15,63 mg kg<sup>-1</sup>; 346,35 mg kg<sup>-1</sup> e 21,97 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Para P e K, os valores estão abaixo dos valores críticos estabelecidos por Novais et al. (2007), que variam de 1 a 5 g kg<sup>-1</sup> e 8 e 30 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, na massa seca das folhas das plantas em geral. Os teores de Ca, Mg, Cu, Mn e Zn estão dentro dos valores adequados para o crescimento normal das plantas, que variam de 10 e 50 g kg<sup>-1</sup>, 3 e 5 mg kg<sup>-1</sup>, 5 e 20 mg kg<sup>-1</sup>, 20 e 500 mg kg<sup>-1</sup> e 3 e 150 mg kg<sup>-1</sup> na massa seca das folhas, respectivamente, para o crescimento normal das plantas (NOVAIS et al., 2007). Com destaque para o teor de ferro (1.694,00 mg kg<sup>-1</sup>), de acordo com Novais et al. (2007) as culturas em geral apresentam de 50 -100 mg kg<sup>-1</sup> de ferro na massa seca das folhas. Se considerarmos o maior valor (100 mg kg<sup>-1</sup>), a rosela apresentou 16,94 vezes mais ferro na massa seca das folhas quando comparado com as culturas em geral.

TABELA 6. Teores de nutrientes das folhas da rosela cultivada com cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> mais a testemunha, nos anos de 2008/2009 e 2009/2010. Dourados - UFGD, 2008/2010. Dados das formas de aplicação foram agrupados.

Resíduos orgânicos	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio
	g kg <sup>-1</sup>			
Cama-de-frango	0,89 a	1,95 a	12,69 a	3,04 a
Organosuper <sup>®</sup>	0,91 a	1,93 a	13,07 a	3,15 a
Testemunha	0,91	1,83	12,36	3,00
C <sub>1</sub> = cf - test	-0,02 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>
C <sub>2</sub> = or - test	0,00 <sup>ns</sup>	0,10 <sup>ns</sup>	0,71 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>
Resíduos orgânicos	Ferro	Cobre	Manganês	Zinco
	mg kg <sup>-1</sup>			
Cama-de-frango	1.600 a	15,64 a	358,02 a	21,90 a
Organosuper <sup>®</sup>	1.788 a	15,61 a	334,69 a	22,04 a
Testemunha	1.794	15,84	334,61	22,00
C <sub>1</sub> = cf - test	-194 <sup>ns</sup>	-0,20 <sup>ns</sup>	23,41 <sup>ns</sup>	-0,10 <sup>ns</sup>
C <sub>2</sub> = or - test	-6 <sup>ns</sup>	-0,23 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste F. \*,<sup>ns</sup> Contraste significativo e não significativo, respectivamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

TABELA 7. Teores de nutrientes de folhas da rosela cultivada sob três formas de aplicação dos resíduos orgânicos, nos anos agrícolas de 2008/2009 e 2009/2010. Dourados - UFGD, 2008/2010. Dados dos resíduos orgânicos foram agrupados.

Formas de aplicação	Fósforo	Potássio	Cálcio	Magnésio
	g kg <sup>-1</sup>			
Incorporado	0,89 a	1,93 a	13,04 a	3,06 a
Cobertura	0,90 a	1,96 a	12,10 a	3,10 a
Inc. + Cobert.	0,92 a	1,93 a	13,49 a	3,14 a
C.V. (%)	7,18	8,64	10,87	8,92
Formas de aplicação	Ferro	Cobre	Manganês	Zinco
	mg kg <sup>-1</sup>			
Incorporado	1.750 a	15,66 a	340,78 a	21,69 a
Cobertura	1.578 a	15,56 a	350,76 a	21,81 a
Inc. + Cobert.	1.753 a	15,66 a	347,53 a	22,43 a
C.V. (%)	25,14	8,36	19,41	10,45

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

## 4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi conduzido o experimento, concluiu-se que para obter maiores produções de biomassa as plantas de rosela devem ser cultivadas com cama-de-frango semidecomposta, independente da forma de adição do resíduo.

Os teores de nutrientes nas folhas não foram influenciados pelos resíduos orgânicos nem pela forma de adição.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). Official methods of analysis of the AOAC. p.2000, Washington, DC. 1995.

AVISITE. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/>. Acessado em 31 de Janeiro 2011.

BLAISE, D. Yield, Boll Distribution and Fibre Quality of Hybrid Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) as influenced by Organic and Modern Methods of Cultivation. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 192, n. 4, p. 248-256, 2006.

CASTRO, N. E. A. de; PINTO, J. E. B. P.; CARDOSO, M. das G.; MORAIS, A. R. de; BERTOLUCCI, S. K. V.; SILVA, F. G. da; DELÚ FILHO, N. Planting time for maximization of yield of vinegar plant calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 3, p. 542-551, 2004.

CHANG, C. C.; JENG, D. H.; SAN, F. W.; HUEI, C. C.; MON, Y. Y.; ERL, S. K.; YUNG, C. H.; CHAU, J. W. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5472-5477, 2003.

FRANCHINI, J. C.; MEDA, A. R.; CASSIOLATO, M. E.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A. Potencial de extratos de resíduos vegetais na mobilização do calcário no solo por método biológico. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 357-360, 2001.

FAGBENRO, O. A. Soybean meal substitution with roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed meal in dry practical diets for fingerlings of the African catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal of Animals and Veterinary Advances**, v. 4, n. 4, p. 473-477, 2005.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; MIOLA, E. C. C.; RECOUS, S. Mineralização do carbono da palha de aveia e dejetos de suínos aplicados na superfície ou incorporados ao solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. especial, p. 2661-2668, 2008.

HEREDIA ZÁRATE, N. A.; VIEIRA, M. C.; BRATTI, R. Efeitos da cama-de-frango e da época de colheita sobre a produção e a renda bruta de cebolinha 'Todo Ano'. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 33, n. 2, p. 73-78, 2003.

KARAMANOS, A. J.; BILALIS, D.; SIDIRAS, N. Effects of reduced tillage and fertilization practices on soil characteristics, plant water status, growth and yield of upland cotton. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 190, n. 4, p. 262-276, 2004.

KONZEN, E. A.; ALVARENGA, R. C. Cultivo do Milho. Adubação Orgânica. Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção 1. Versão eletrônica. Dezembro 2006. Available at: <<http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Accessed on 31 January 2011.

MALAVOLTA, E.; VITTI, C. G.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafós, 1997. 319 p.

MORTON, J. F. Rosele. **Fruits of warm climates**. Miami: Julia F. Morton, 1987. 281-286 p.

MUKHTAR, M. A. The effect of feeding rosella (*Hibiscus sabdariffa*) seed on broiler chick`s performance. **Research Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 2, p. 21-23, 2007.

NATURLAND. Organic farming in the tropics and subtropics. II Special section: **Organic Hibiscus Cultivation**. 1. ed. Germany: Naturland e. V., 2000. 10 p.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. Fósforo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: UFV, 2007. p. 471-550.

OTTAI, M. E. S.; ABOUD, K. A.; MAHMOUD, I. M.; EL-HARIRI, D. M. Stability analysis of roselle cultivars (*Hibiscus sabdariffa* L.) under different nitrogen fertilizer environments. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 2, n. 3, p. 333-339, 2006.

POTTHOFF, M.; DYCKMANS, J.; FLESSA, H.; MUHS, A.; BEESE, F.; JOERGENSEN, R. G. Dynamics of maize (*Zea mays* L.) leaf straw mineralization as affected by the presence of soil and the availability of nitrogen. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 7, p. 1259-1266, 2005.

RASSE, D. P.; RUMPEL, C.; DIGNAC, M. F. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilization. **Plant and Soil**, v. 269, n. 1-2, p. 341-356, 2005.

RECOUS, S.; ROBIN, D.; DARWIS, D.; MARY, B. Soil inorganic N Availability: effect on maize residue decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, n. 12, p. 1529-1538, 1995.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; DE MELO, A. L. P. **Guia prático para utilização do SAEG**. Viçosa: Folha, 2008. 288p.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO P. C.; FABRICIO, A. C.; MACEDO, M. C. M.; BROCH, D. L.; Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 11-21, 2008.

SANTOS, C. C. dos; BELLINGIERI, P. A.; FREITAS, J. C. de. Effect of the application of chicken litter composts on chemical properties of a Typic Haplorthox soil cultivated with sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Científica**, v. 32, n. 2, p. 134-140, 2004.

SINGH, V.; PALLAGHY, C. K.; SINGH, D. Phosphorus nutrition and tolerance of cotton to water stress: II. Water relations, free and bound water and leaf expansion rate. **Field Crops Research**, v. 96, n. 2, p. 199-206, 2006.



SIQUEIRA NETO, M.; PICCOLO, M. C.; ERIC SCOPEL, E.; COSTA JUNIOR, C.; CERRI, C. C.; BERNOUX, M. Carbono total e atributos químicos com diferentes usos do solo no Cerrado. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 4, p. 709-717, 2009.

**ARTIGO 2**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTITUMORAL DE *HIBISCUS*  
*SABDARIFFA* L. CULTIVADA COM ADUBAÇÃO ORGÂNICA**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTITUMORAL DE *HIBISCUS SABDARIFFA* L. CULTIVADA COM ADUBAÇÃO ORGÂNICA**

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar os teores de fenóis, flavonóides, a atividade antioxidante e a atividade antitumoral *in vitro* dos extratos metanólicos das folhas e cálices de rosela cultivada com cama-de-frango semidecomposta e organosuper<sup>®</sup> sob três formas de adição. A atividade antioxidante foi realizada pelo método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre estável 1,1-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e atividade antitumoral pelo método colorimétrico com sulforrodamina B. Os maiores conteúdos de fenóis e flavonóides foram observados no extrato metanólico das folhas (389,98 mg g<sup>-1</sup> e 104,52 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente) e cálices (474,09 mg g<sup>-1</sup> e 148,35 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente) das plantas cultivadas com organosuper<sup>®</sup> incorporado). A IC<sub>50</sub> média demonstrou que folhas (43,48 µg mL<sup>-1</sup>) e cálices (37,15 µg mL<sup>-1</sup>) apresentam substâncias que podem contribuir para ação sequestradora de radicais livres. O extrato metanólico de cálices apresentou significativa atividade seletiva para linhagem de células leucêmicas (K-562) com IC<sub>50</sub> média de 0,12 e 1,16, respectivamente, concentração dependente, efeitos citotóxico e citocida.

**Palavras-chave:** cama-de-frango, organosuper<sup>®</sup>, fenóis totais, DPPH

**ANTIOXIDANT AND ANTITUMOR ACTIVITY OF *HIBISCUS SABDARIFFA*  
L. CULTIVATED WITH ORGANIC FERTILIZATION**

**ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the phenol and flavonoids content, and antioxidant and anticancer activity of leaves and calyces extracts of rosella cultivated with poultry litter and organosuper<sup>®</sup> under three modes of application. The antioxidant activity of the methanolic extract were determined using 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical method and anticancer assay colorimetric with sulforodamin B. The highest contents of phenol and flavonoids were observed in leaf extract (389.98 mg g<sup>-1</sup> and 104.52 mg g<sup>-1</sup>, respectively) and calyces (474.09 mg g<sup>-1</sup> and 148.35 mg g<sup>-1</sup>, respectively) of plants cultivated with organosuper<sup>®</sup> incorporated. The IC<sub>50</sub> average of leaves (43.48 µg mL<sup>-1</sup>) and calyces (37.15 µg mL<sup>-1</sup>) demonstrated that both have substances that may contribute to free radical scavenging action. The methanol extract of calyces showed significant selective activity for leukemia lineage (K-562) with IC<sub>50</sub> values of 0.12 and 1.16 mg mL<sup>-1</sup>, respectively, concentration dependent, cytotoxic and cytocide effects.

**Keywords:** poultry litter, organosuper<sup>®</sup>, total phenols, DPPH

## 1 INTRODUÇÃO

*Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae, rosela), popularmente conhecida como rosela, é uma importante planta medicinal, nativa da Índia e Malásia, cresce facilmente em regiões tropicais e subtropicais e foi introduzida em muitas regiões da América Central e do Sul (MORTON, 1987). A planta é um sub-arbusto herbáceo, anual, ereto, com sistema radicular profundo, caule fibroso, flores brancas com cálices vermelho brilhante e de sabor ácido.

Na medicina popular, a infusão dos cálices é usada no tratamento de distúrbios gastrointestinais, diuréticos, doenças do fígado, febre, hipercolesterolemia e hipertensão (MONROY-ORTIZ e CASTILLO-ESPAÑA, 2007). Há relatos na literatura consultada de que o extrato dos cálices apresenta uma variedade de efeitos terapêuticos *in vivo* e *in vitro*, incluindo atividade antitumoral (LIN et al., 2005; OLVERA-GARCÍA et al., 2008) e antioxidante (OLATUNDE e FAKOYA, 2005; JAYAPRAKASHA et al., 2008).

Os cálices da rosela têm sido tema de grande número de estudos e são bem conhecidos pela ocorrência de ácidos polifenólicos, flavonóides e antocianinas, como delfinidina-3-O-glicosídeo, delfinidina-3-O-sambubioside e cianidina-3-O-sambubioside (ALI et al., 2005). Em estudos anteriores, as antocianinas presentes na rosela e o ácido protocatecuico apresentaram forte atividade antioxidante (TSENG et al., 1997; WANG et al., 2000; LEE et al., 2002) e efeito antitumoral contra células humanas leucêmicas e células do carcinoma gástrico (TSENG et al., 1998; TSENG et al., 2000; CHANG et al., 2005; LIN et al., 2005).

Estudos têm demonstrado efeito cardioprotetor adicional das antocianinas, dos flavonóides e polifenóis, seja atuando como antioxidantes ou por meio de outros mecanismos. O ácido protocatecuico, componente do extrato da rosela, inibiu a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) *in vitro* e diminuiu os níveis de colesterol de ratos e coelhos alimentados com uma dieta calórica (CHEN et al., 2003; CHEN et al., 2004).

Entre os métodos químicos utilizados para determinar a capacidade antioxidante de um composto em capturar radicais livres, o DPPH (1,1-difenil-1-picril-hidrazila) é um dos mais utilizados, pois é considerado prático, rápido e estável (ESPIN et al., 2000). Este método é baseado na capacidade de os compostos doarem um próton

ao DPPH e formar estruturas de ressonância estável. Os antioxidantes são considerados inibidores eficazes da carcinogênese. Alguns estudos têm sugerido que os alimentos antioxidantes e/ou medicamentos desempenham um papel protetor da saúde humana (AMES et al., 1993). Portanto, como os cálices da rosela são normalmente consumidos em todo o mundo com objetivos culinários e medicinais, juntamente com o seu potencial uso terapêutico, é necessário investigar técnicas de cultivo da espécie e avaliar seus metabólitos secundários.

A quantidade de componentes bioativos é influenciada pelo manejo (adubação, tratamentos culturais, dentre outros), sendo a eficácia da ação dependente da concentração desses fitoconstituintes. Assim, a adubação orgânica pode ser fundamental quando se visa à produção adequada de plantas medicinais. Além disso, cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> contém altas concentrações de C, N, P, K e outros nutrientes (MULLINS e BENDFELDT, 2001).

Na literatura consultada não existem relatos da influência da adubação orgânica sob a atividade dos extratos, por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do uso da cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> e das formas de adição ao solo sobre os teores de fenóis, flavonóides, a atividade antioxidante e a atividade antitumoral *in vitro* dos extratos metanólicos das folhas e cálices de rosela. Nossa hipótese é que o cultivo da rosela com resíduos orgânicos promova um incremento na quantidade de componentes bioativos dessa espécie.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Material vegetal e fase de campo

A fase de campo da pesquisa foi realizada no Horto de Plantas Mediciniais - HPM, da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados-MS, entre os meses de dezembro e julho de 2009/2010, onde a rosela foi cultivada. A área localiza-se ao Sul do Estado de Mato Grosso do Sul, com altitude média de 452 m, latitude 22°11'44" S e longitude 54°56'09" W. O clima, segundo a classificação de Köppen é do tipo Cwa. O solo é um Latossolo Vermelho Distroférrico, de textura muito argilosa, de topografia plana.

Os tratamentos no campo foram constituídos pelas combinações de dois compostos orgânicos cama-de-frango (10 t ha<sup>-1</sup>) e organosuper<sup>®</sup> (10 t ha<sup>-1</sup>) e três modos de aplicação (cobertura, incorporada e cobertura + incorporada) mais a testemunha, arranjados como fatorial 2 x 3+1, no delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro repetições. No modo cobertura + incorporada foram aplicados 5 t ha<sup>-1</sup> + 5 t ha<sup>-1</sup>. Quando as plantas começaram a florescer, aos 95 dias após o transplante (DAT) foram colhidas as folhas. Das plantas remanescentes de cada parcela foram feitas duas colheitas dos cálices aos 139 e 185 DAT, usando como indicativo do ponto de colheita o tamanho dos cálices, de aproximadamente 3,5 cm.

### 2.2. Fase de laboratório

A fase de laboratório foi realizada no Laboratório de Plantas Mediciniais, da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados-MS, exceto a avaliação da atividade antitumoral do extrato metanólico que foi realizada no CPQBA (UNICAMP), sob responsabilidade do professor Dr. João Ernesto de Carvalho e Dra. Mary Ann Foglio.

#### 2.2.1. Materiais e reagentes

Solventes e reagentes usados foram de pureza analítica. O reagente Folin-Ciocalteu usado foi adquirido da Merck<sup>®</sup>; DPPH (1,1-difenil-1-picril-hidrazila) da

Aldrich<sup>®</sup>, e ácido gálico e a quercetina da Vetec<sup>®</sup>. A absorção foi medida usando espectrofotômetro UV-Vis (Biospectro, SP-220).

### **2.2.2. Preparação do extrato metanólico**

Folhas e cálices da rosela, de cada tratamento em estudo, foram secas em estufa de circulação de ar (AC-035/81) a  $45 \pm 2^\circ\text{C}$  por quatro dias e posteriormente trituradas em um moinho de facas (MA340/A). O material obtido (50 g) foi submetido ao processo de maceração por um período de 24 horas em 300 mL de metanol (Dynamica<sup>®</sup>), à temperatura ambiente, seguida por filtração em papel de filtro. O processo foi repetido cinco vezes e os filtrados foram agrupados e concentrados com rotoevaporador (MA-120) sob pressão reduzida e liofilizados.

### **2.2.3. Determinação de fenóis totais**

Compostos fenólicos totais no extrato metanólico de folhas e cálices de rosela foram determinados pelo método Folin-Ciocalteu (MEDA et al., 2005). Especificamente, para cada 100  $\mu\text{L}$  de amostra foram adicionados 1,0 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:10 v/v). Após três minutos, foram adicionados 1,5 mL de solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2%). Depois de 30 minutos, a absorbância da densidade óptica foi medida em 765 nm utilizando espectrofotômetro. A quantificação foi feita com base na curva padrão do ácido gálico preparado em metanol (80%) e os resultados expressos em mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato. Uma solução metanólica foi usada como branco e os ensaios foram realizados em triplicata.

### **2.2.4. Determinação dos flavonóides totais**

Para determinar os teores de flavonóides, a cada 500  $\mu\text{L}$  de amostra foram adicionados 1,50 mL de etanol (95%), 0,10 mL de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (10%), 0,10 mL de acetate de sódio ( $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e 2,80 mL de água destilada. Os tubos foram mantidos à temperatura ambiente por 40 minutos. A densidade óptica foi medida em 415 nm utilizando espectrofotômetro. O mesmo procedimento foi usado para análise do branco (LIN e TANG, 2007). Para calcular o teor de flavonóides foi preparada uma curva de calibração (2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 25,0;



50,0; 100,0 e 125,0 µg) usando quercetina como padrão. Os resultados foram expressos em mg equivalente de quercetina por grama de extrato, sendo os ensaios realizados em triplicata.

### **2.2.5. Análise da atividade antioxidante**

Os extratos foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD) usando quercetina como controle positivo. As placas foram eluidas em  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  10% e depois de secas, foram nebulizadas com uma solução metanólica de DPPH (0,4 mmol  $\text{L}^{-1}$ ). As células foram observadas até o aparecimento de manchas amarelas sobre um fundo de coloração púrpura, indicando possível atividade antioxidante (SOLER-RIVAS et al., 2000).

### **2.2.6. Ensaio utilizando radical livre DPPH**

A atividade antioxidante dos extratos metanólicos de folhas e cálices foram determinadas usando o radical livre 1,1-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (BLOIS, 1958). A cada uma das amostras foi adicionado 2 mL de uma solução metanólica de DPPH (0,1 mM). A mistura foi agitada e deixados em repouso à temperatura ambiente no escuro. Após 30 min, a absorbância foi medida em 517 nm contra um branco contendo todos os reagentes, exceto as amostras de teste. Butil hidroxitolueno (BHT) foi usado como padrão. A  $\text{IC}_{50}$  (concentração para inibir 50% do DPPH remanescente) foi calculado através do gráfico de %I (percentagem de inibição) versus a concentração do extrato em  $\text{mg mL}^{-1}$ . A percentagem de inibição (% I) do DPPH foi calculada usando a equação % I:  $(A_0 - A/A_0) \times 100$ , onde  $A_0$  é a absorbância do DPPH (controle) e A é a absorbância da amostra mais o DPPH. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### **2.2.7. Avaliação da atividade antitumoral**

A avaliação da atividade antitumoral dos extratos metanólicos de folhas e cálices de rosela foi realizada pelo método colorimétrico com sulforrodamina B (SKEHAN et al., 1990), usando doxorubicina como controle positivo. 100 µL de células foram inoculadas em meio RPMI 1640/SFB 10%/gentamicina, em placas de 96 compartimentos e incubados por 24 h à 37°C com 5% de  $\text{CO}_2$ . Depois desse período, uma placa controle foi fixada através da adição de ácido tricloroacético para a

determinação da quantidade de células no momento da adição das drogas. Os extratos foram testados nas seguintes concentrações: 0,25; 2,50; 25,00 e 250,00  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e incubado por 48 h. Em seguida, as placas foram coradas pela adição de 50  $\mu\text{L}$  do corante proteico sulforrodamina B (SRB) a 0,4% (peso/volume), dissolvido em ácido acético a 1%, e incubadas a 4°C, durante 30 minutos. O corante foi dissolvido em uma solução de Trizma base (10  $\mu\text{M}$ , pH 10.5) e a leitura espectrofotométrica foi realizada em 540 nm com um leitor de microplacas. A atividade antitumoral *in vitro* foi avaliada contra as seguintes culturas de células humanas tumorais: melanoma (UACC-62), mama (MCF7) leucemia (K-562), ovário (OVCAR-3), próstata (PC-3), cólon (HT29), rim (786-0), glaucoma (U251) e Vero (linhagem de células normais).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com organosuper<sup>®</sup> incorporado apresentou os maiores teores de fenóis (389,98 mg g<sup>-1</sup> e 474,09 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente) (TABELA 1).

TABELA 1. Teores de fenóis (mg g<sup>-1</sup>) e flavonóides (mg g<sup>-1</sup>) do extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com dois resíduos orgânicos e três formas de adição mais o controle.

Resíduo orgânico	Forma de adição	Folhas	
		Fenóis	Flavonóides
Controle		377,78 ± 6,61	97,43 ± 2,51
	Incorporada	387,55 ± 2,69	103,33 ± 5,61
Cama-de-frango	Cobertura	380,68 ± 3,30	95,85 ± 1,85
	Inc.+ Cob.	377,50 ± 2,82	96,65 ± 0,79
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporada	389,98 ± 5,98	104,52 ± 4,85
	Cobertura	380,83 ± 5,27	97,73 ± 0,92
	Inc.+ Cob.	379,95 ± 2,90	98,82 ± 3,43
Médias		382,04 ± 4,22	98,32 ± 2,35
		Cálices	
Controle		453,43 ± 3,78	140,29 ± 3,14
	Incorporada	471,35 ± 3,03	147,52 ± 1,21
Cama-de-frango	Cobertura	454,66 ± 9,08	141,77 ± 5,98
	Inc.+ Cob.	468,45 ± 7,66	142,72 ± 3,63
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporada	474,09 ± 4,39	148,35 ± 2,42
	Cobertura	455,89 ± 9,48	143,06 ± 2,44
	Inc.+ Cob.	465,48 ± 8,58	142,63 ± 2,75
Médias		463,34 ± 6,57	143,76 ± 3,08

Valores representam medias da triplicata.

Os maiores teores de flavonóides também foram observados no extrato das folhas (104,52 mg g<sup>-1</sup>) e cálices (148,35 mg g<sup>-1</sup>) de plantas cultivadas com organosuper<sup>®</sup> incorporado (Tabela 1). Vários fatores ambientais influenciam a produção de fenóis e flavonóides nas plantas, como, por exemplo, temperatura, altitude, nutrição, stress, e radiação ultravioleta (MELO et al., 2006; GOBBO-NETO e LOPES, 2007). A radiação solar é um dos fatores que, via de regra, está relacionada à variação quantitativa. Muitos trabalhos demonstraram que há um aumento quantitativo de flavonóides em órgãos expostos à luz, em comparação com aqueles que estão à sombra (HILLIS e SWAIN, 1959; BOHM, 1987; HOLST, 1977).

Com relação ao solo, foram levados em consideração os atributos apresentados na Tabela 2. A acidez é uma característica generalizada dos solos agrícolas brasileiros, causando principalmente diminuição na disponibilidade de cátions nutrientes (Ca, Mg, K) e aumento na solubilidade de cátions tóxicos (H, Al). A deficiência de Ca e a toxidez de Al são as principais limitações químicas para o crescimento radicular, cujas consequências se manifestam pelo estresse nutricional e hídrico nas plantas (FRANCHINI et al., 2001). Uma vez que a influência do alumínio sobre as plantas é principalmente indireta, a concentração de íons alumínio no solo não é o melhor índice de sua toxidez. O percentual de saturação de alumínio no solo (m), dado pela relação  $m = (Al/SB+Al) \times 100$  (RAIJ, 1983), é o índice da toxidez do alumínio mais utilizado (GOODLAND e FERRI, 1979). Analisando o pH em CaCl<sub>2</sub> dos tratamentos controle, cama-de-frango incorporado e organosuper<sup>®</sup> incorporado observou-se que menores valores foram obtidos com a cama-de-frango incorporada e com o organosuper<sup>®</sup> incorporado (4,8 e 4,3, respectivamente) quando comparados ao controle (5,1). No entanto, a saturação de alumínio foi maior no controle (m = 6,9%), um indicativo da menor fertilidade deste em comparação a cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> incorporado (m = 4,5 e 2,6%, respectivamente). Esta diferença, entretanto, pode estar influenciando a produção de fenóis e flavonóides nas plantas cultivadas com cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> incorporado.

TABELA 2. Análise química das amostras de solo, colhidas na área do experimento, antes do transplante e após a colheita da rosela. UFGD, Dourados, MS, 2008/2009.

Atributos do solo <sup>1</sup>	Após a colheita						
	Controle	Cama-de-frango			Organosuper <sup>®</sup>		
		Inc.	Cob.	Cob./Inc.	Inc.	Cob.	Cob./Inc.
pH em CaCl <sub>2</sub> (1:2,5)	5,1	4,8	4,0	4,8	4,3	5,0	4,8
pH em água (1:2,5)	5,5	5,3	5,5	5,1	5,5	5,8	5,1
Al <sup>+3</sup> (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	4,3	3,1	3,1	4,3	1,8	4,3	4,3
P (mg dm <sup>-3</sup> )	13,0	30,0	56,0	38,0	25,0	22,0	38,0
K (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	3,6	3,8	8,0	7,0	2,8	2,9	7,0
Mg (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	26,0	25,0	27,0	24,0	25,0	34,0	24,0
Ca (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	28,4	37,0	40,0	35,0	41,0	52,0	35,0
Matéria orgânica (g dm <sup>-3</sup> )	21,7	34,5	32,5	32,9	35,1	34,6	33,8
Acidez pot. (H+Al)(mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	55,0	80,0	55,0	69,0	55,0	58,0	69,0
Soma de bases (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	58	65,8	75,0	66,0	68,8	88,9	66,0
(CTC) (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	120,6	145,8	130,0	135,0	123,8	146,9	135,0
Saturação de bases (V) %	54,0	45,0	57,0	48,0	55,0	60,0	48,0
Saturação de alumínio (m) %	6,9	4,5	4,0	6,1	2,6	4,6	6,1

<sup>1/</sup> Análises feitas no laboratório de solos da FCA – UFGD. Antes transp. = antes transplante, Inc.= incorporado, Cob.= cobertura e Inc.+ Cob.= incorporado + cobertura.

Os menores teores de fenóis e flavonoides obtidos em folhas e cálices de rosela cultivados com a cama-de-frango semidecomposta incorporada quando comparado ao organosuper<sup>®</sup> incorporado, provavelmente, se deve à melhoria nas propriedades físicas do solo, aumento na retenção de água no solo e, portanto, maior disponibilidade de água para as plantas (KARAMANOS et al., 2004). Considerando as altas temperaturas médias máximas (29,7) e mínimas (17,6) registradas ao longo do ciclo de cultivo da rosela, podemos inferir que, a umidade do solo com a cama-de-frango semidecomposta pôde ser mantida por mais tempo em períodos de distribuição irregular de chuvas. Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), a concentração de metabólitos fenólicos pode variar em função da disponibilidade hídrica, estudos realizados apresentam resultados conflitantes e parece não ser possível estabelecer uma correlação clara entre sua concentração e estresse hídrico. Em *Hypericum perforatum* há um aumento significativo na concentração de flavonóides, hipericinas, e ácido clorogênico nas flores sob condições de estresse hídrico (GRAY et al., 2003). Por outro lado, Gleadow e Woodrow (2002) relatam que os teores de fenóis totais e de taninos de *Eucalyptus cladocalyx* var. *nana* não foram afetados pelo estresse hídrico. O efeito da seca na concentração de metabólitos é, às vezes, dependente do grau de estresse e do período em que ocorre, sendo que efeitos em curto prazo parecem levar a uma produção aumentada, enquanto em longo prazo é observado efeito oposto (WATERMAN e MOLE, 1994).

Em geral, os maiores teores de fenóis e flavonóides foram observados nos cálices, que variaram de 454,66 a 474,09 mg g<sup>-1</sup> e 140,29 a 148,35 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente, independente da forma de cultivo das plantas. De acordo com Julian et al. (2009) os cálices de rosela são uma rica fonte de antocianinas quando comparados com outra fonte natural.

Pela avaliação do extrato metanólico de folhas e cálices das plantas sob os diferentes tratamentos (por CCD, com sílica gel), observou-se a existência de substâncias com atividade antioxidante, como evidenciado por manchas cromatográficas amarelas sobre fundo roxo, resultante da redução do radical DPPH.

A quantidade de extrato requerida para inibir 50% do DPPH não foi influenciada pelo uso dos resíduos orgânicos no solo nem pela forma de adição estudados. A IC<sub>50</sub> média demonstrou que folhas (43,48 µg mL<sup>-1</sup>) e cálices (37,15 µg mL<sup>-1</sup>) (Tabela 3) têm substâncias que podem contribuir para a capacidade sequestradora de radicais livres, comparado com o controle positivo BHT (16,7 µg mL<sup>-1</sup>). Os efeitos

antioxidantes dos extratos foram provavelmente devido a um subgrupo de flavonóides, as antocianinas, que têm sido relatadas na literatura como os principais constituintes da rosela (STRACK e WRAY, 1986; MAZZA e MINIATI, 1993; TSAI et al., 2002). Estas substâncias apresentam conjugação para formar estruturas de ressonância estável durante a formação das moléculas desses radical, destacando a alta resposta ao teste com radicais livres (DPPH).

Considerando que as substâncias naturais, tais como compostos fenólicos, especialmente flavonóides (antocianinas e antoxantinas) podem ser responsáveis pelo efeito protetor contra o risco de muitos processos da doença, como o câncer (WANG e MAZZA, 2002; KATSUBE, 2003), prevenção de doenças cardiovasculares e circulatórias (STOCLET et al., 2004), diabetes e a doença de Alzheimer (HERTOG et al., 1997; ISHIGE et al., 2001; ABDILLE et al., 2005), e que o extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> incorporado apresentou maiores teores de fenóis e flavonóides, sua atividade antitumoral *in vitro* foi avaliada contra as seguintes culturas de células humanas tumorais: melanoma, mama, leucemia, ovário, próstata, cólon, rim, glaucoma e Vero (Tabela 4).

TABELA 3. Atividade antioxidante do extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com dois resíduos orgânicos e três formas de adição mais o controle<sup>a</sup>

Resíduo orgânico	Formas de adição	IC <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	
		Folhas	Cálices
Controle		44,98	37,86
Cama-de-frango	Incorporado	42,30	36,10
	Cobertura	42,70	37,42
	Inc.+ Cob.	44,15	37,11
Organosuper <sup>®</sup>	Incorporado	42,43	35,79
	Cobertura	44,37	37,11
	Inc.+ Cob.	43,40	38,65
Médias		43,48	37,15

<sup>a</sup> Valores representam médias da triplicata. <sup>b</sup> IC<sub>50</sub> = concentração para inibir 50% do DPPH remanescente.

TABELA 4. A IC<sub>50</sub> do extrato metanólico de folhas e cálices de rosela cultivada com cama-de-frango, organosuper<sup>®</sup> mais o controle contra células tumorais humanas

Células tumorais humanas	Folhas			Cálices		
	Cama <sup>a</sup>	Org. <sup>b</sup>	Controle	Cama <sup>a</sup>	Org. <sup>b</sup>	Controle
Melanoma (UACC-62)	>100	32,56	64,94	56,4	83,72	>100
Glaucoma (U251)	nd	nd	nd	>100	>100	nd
Mama (MCF7)	nd	nd	nd	>100	>100	nd
Leucemia (K-562)	43,20	nd	49,9	1,16	0,12	2,24
Ovário (OVCAR)	nd	nd	nd	95,77	>100	nd
Próstata (PCO-3)	nd	nd	nd	>100	>100	nd
Cólon (HT29)	nd	nd	nd	>100	>100	nd
Rim (786-0)	nd	nd	nd	>100	>100	nd
Vero	nd	nd	nd	>100	>100	nd

<sup>a</sup> cama = cama-de-frango. <sup>b</sup> organo = Organosuper<sup>®</sup>. nd = não determinado.

As Figuras 1, 2 e 3 apresentam as curvas de concentração-resposta do controle, e extrato metanólico das folhas e cálices de plantas cultivadas com cama-de-frango e organosuper<sup>®</sup> incorporado sobre as diferentes linhagens celulares, correlacionando o percentual de crescimento da célula com a concentração da amostra utilizada.

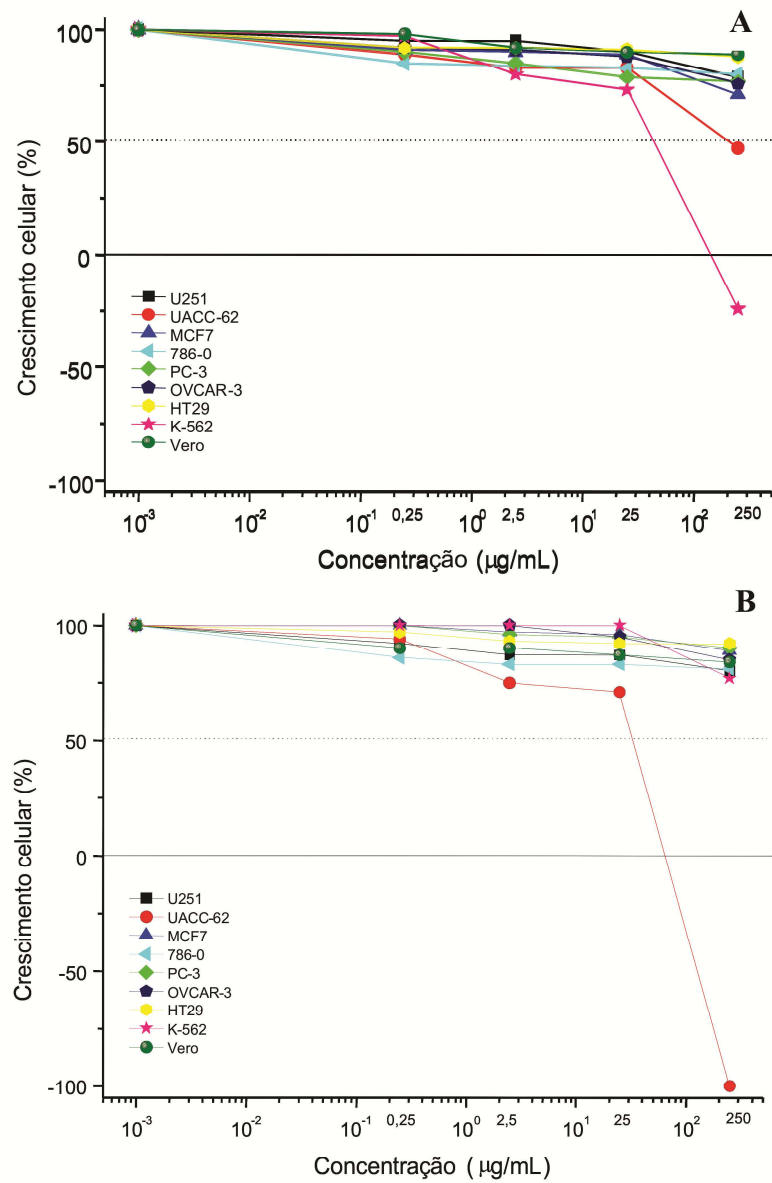


FIGURA 1. Atividade do extrato metanólico de folhas de rosela cultivada com cama-de-frango (A) e organosuper<sup>®</sup> (B) incorporados, após 48 h de exposição contra células tumorais humanas.



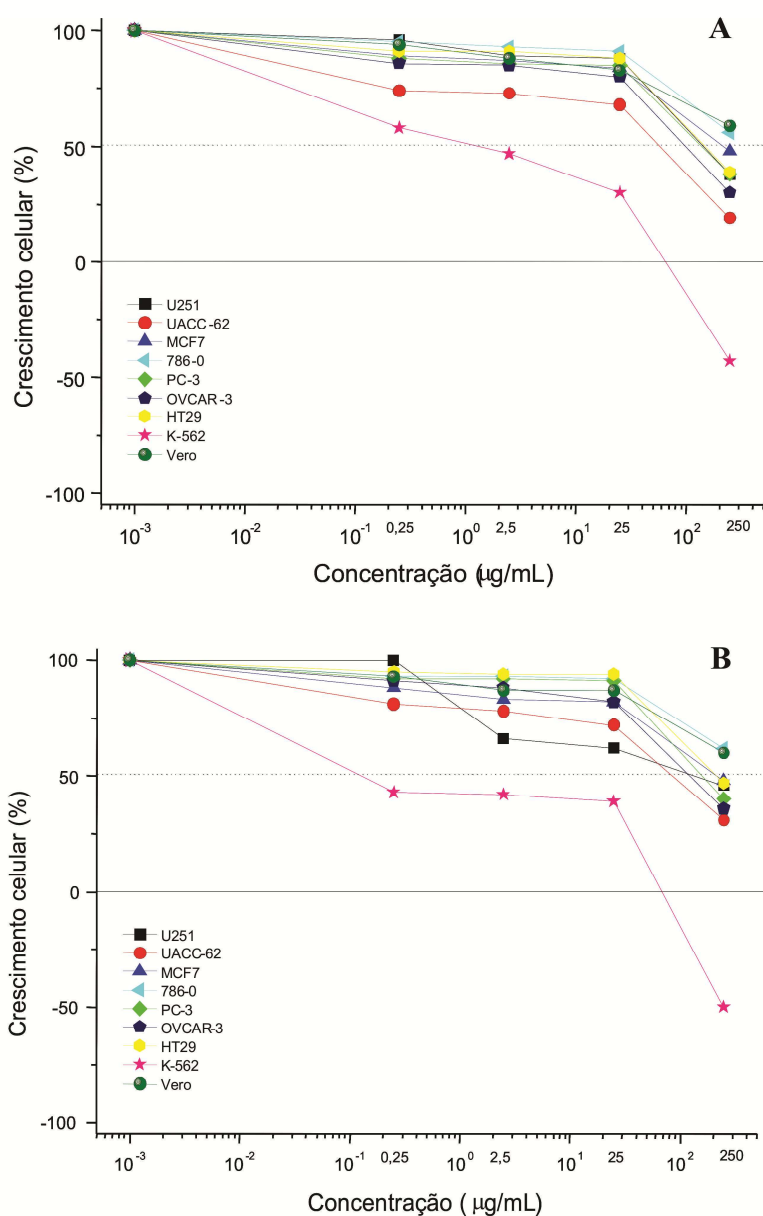


FIGURA 2. Atividade do extrato metanólico de cálices de rosela cultivada com cama-de-frango (A) e organosuper<sup>®</sup> (B) incorporados, após 48 h de exposição contra células tumorais humanas.

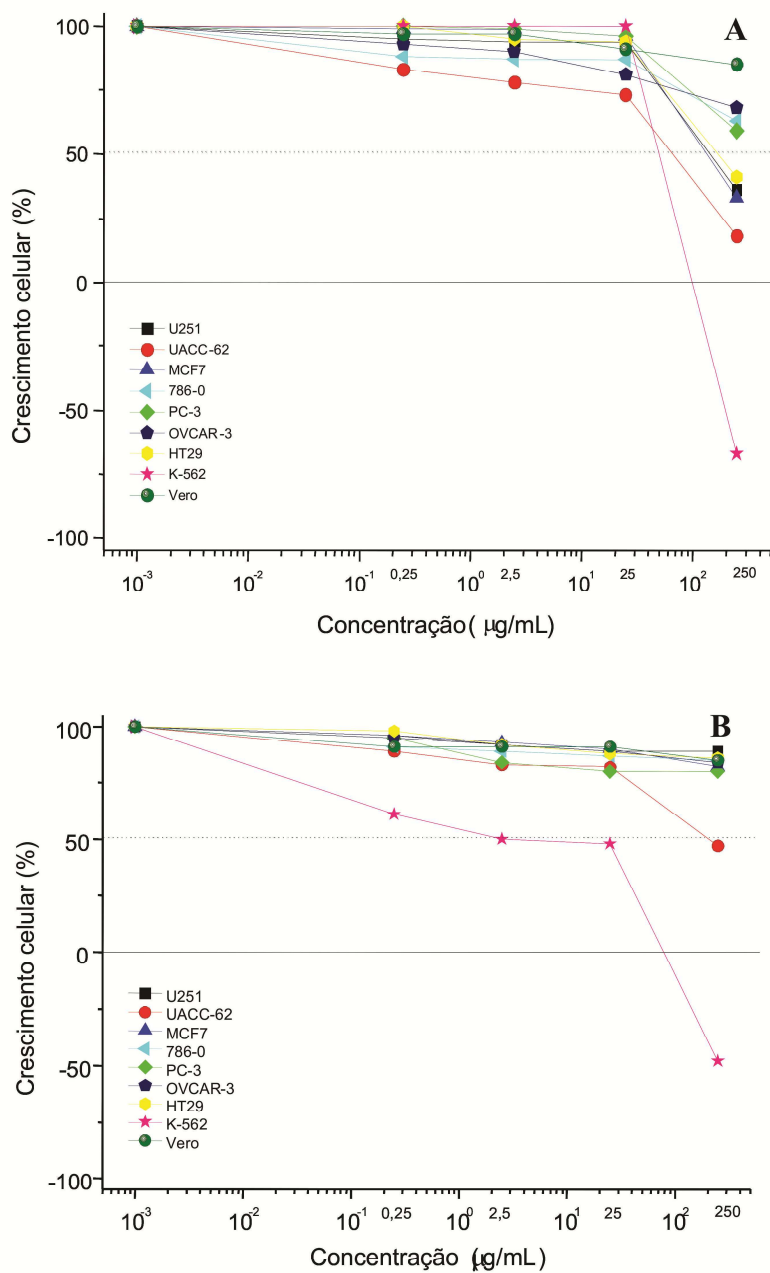


FIGURA 3. Atividade do extrato metanólico de folhas (A) e cálices (B) de rosela cultivada sem aplicação dos resíduos (controle), após 48 h de exposição contra células tumorais humanas.

As Figuras 1A e 1B mostram que o extrato metanólico das folhas apresentou baixa atividade contra células leucêmicas, com valores de  $IC_{50}$  de 43,20 mg mL<sup>-1</sup>, quando comparado com os cálices (Tabela 2). As curvas das Figuras 2A e 2B mostram que o extrato metanólico de cálices apresentou atividade seletiva expressiva para a linhagem de células leucêmicas (K-562), com valores de  $IC_{50}$  1,16 e 0,12 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, concentração dependente, e efeitos citotóxico e citocida. Entretanto, quando as curvas das Figuras 3A e 3B foram avaliadas não apresentaram diferença na atividade do extrato de folhas e cálices comparado com o controle (Tabela 4).

Estudos avaliando a proliferação celular sugerem que a inibição das células HeLa promovida pelo extrato aquoso das flores de rosela pode estar correlacionado com a condição ácida induzida pela presença de compostos fenólicos, principalmente ácido protocatecuico, antocianinas, quercetina, bem como os ácidos orgânicos, cítrico, málico e tartárico (OLVERA-GARCÍA et al., 2008). Ali et al. (2005) e Falade et al. (2005) relatam que células humanas leucêmicas incubadas por 24 e 48 h com ácido protocatecuico (3,4-dihidroxibenzóico, PCA) nas concentrações 0,2; 0,5; 1,0 e 2,0 mM apresentaram efeito inibitório sobre o crescimento celular. Esses compostos induziram a fragmentação do DNA internucleosomal celular e mudanças morfológicas características de apoptose (TSENG et al., 2000).

Assim, os resultados descritos neste trabalho estimulam mais estudos com rosela usando outras formas de cultivo na tentativa de aumentar a concentração de substâncias potencialmente ativas, assegurando sua eficácia e posterior comercialização da espécie.

## 4 CONCLUSÕES

O cultivo da rosela com cama-de-frango semidecomposta e o organosuper<sup>®</sup> incorporado proporcionou os maiores teores de fenóis e flavonóides no extrato metanólico de folhas e cálices da rosela.

O extrato metanólico de cálices da rosela apresentou atividade seletiva para a linhagem de células leucêmicas.

A cama-de-frango semidecomposta e o organosuper<sup>®</sup> incorporados potencializaram a atividade do extrato metanólico de cálices da rosela para a linhagem de células leucêmicas (K-562), com valores de IC<sub>50</sub> 1,16 e 0,12 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDILLE, M. H.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v. 90, p. 891-896, 2005.
- ALI, B. H.; WABEL, N. A.; BLUNDEN, G. Phytochemical and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L. **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 369-75, 2005.
- AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 1993, 90, 7915-7922.
- BLAISE, D. Yield, boll distribution and fiber quality of hybrid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) as influenced by organic and modern methods of cultivation. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 192, p. 248-256, 2006.
- BOHM, B. A. Intraspecific flavonoid variation. **The Botanical Review**, v. 53, n. 2, p. 197-279, 1987.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, p. 1199-1200, 1958.
- CHANG, Y. C.; HUANG, H. P.; HSU, J. D.; YANG, S. F.; WANG, C. J. Hibiscus anthocyanins rich extract-induced apoptotic cell death in human promyelocytic leukemia cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 205, p. 201-212, 2005.
- CHEN, C. C.; HSU, J. D.; WANG, S. F.; CHIANG, H. C.; YANG, M. Y.; KAO, E. S. *Hibiscus sabdariffa* L. extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 5472-5477, 2003.
- CHEN, C. C.; CHOU, F. P.; HO, Y. C.; LIN, W. L.; WANG, C. P.; HAO, E. S. Inhibitory effects of *Hibiscus sabdariffa* L. extract on low-density lipoprotein oxidation and anti-hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1989-1996, 2004.
- ESPIN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H. J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 1588-1592, 2000.
- FALADE, O. S.; OTEMUYIWA, I. O.; OLADIPO, A.; OYEDAPO, O. O.; AKINPELU, B. A.; ADEWUSI, S. R. The chemical composition and membrane stability activity of some herbs used in local therapy for anemia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 15-22, 2005.
- FRANCHINI, J. C.; MEDA, A. R.; CASSIOLATO, M. E. Potencial de extratos de resíduos vegetais na mobilização do calcário no solo por método biológico. **Scientia Agricola**, v. 58, p. 357-360, 2001.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GOODLAND, R.; FERRI, M. G. **Ecologia do cerrado**. Editora: Itatiaia e EDUSP, São Paulo, SP, 1979.

GRAY, D. E.; PALLARDY, S. G.; GARRET, H. E.; ROTTINGHAUS, G. E.; **Planta Medica**, v. 69, p. 1024, 2003.

GLEADOW, R. M.; WOODROW, I. E. Defense chemistry of cyanogenic *Eucalyptus cladocalyx* seedlings is affected by water supply. **Tree Physiology**, v. 22, p. 939-945, 2002.

HERTOG, M. G. L.; SWEETNAM, P. M.; FEHILY, A. M.; ELWOOD, P. C.; KROMHOUT, D. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. The Caerphilly study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, p. 1489-1494, 1997.

HILLIS, W. E.; SWAIN, T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. II.—The analysis of tissues of the *Victoria plum tree*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, p. 135–144, 1959.

HOLST, R. W. Anthocyanins of *Azolla*. **American Fern Journal**, v. 67, p. 99-100, 1977.

ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 30, p. 433-446, 2001.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; RAMAKRISHNA, B. V.; JENA, B. S. Antioxidant activities of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces and fruit extracts. **Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 223–227, 2008.

JULIANI, H. R.; WELCH, C. R.; WU, Q.; DIOUF, B.; MALAINY, D.; SIMON, J. E. Chemistry and quality of Hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) for developing the natural-product industry in Senegal. **Journal of Food Science**, v. 74, p. 113-121, 2009.

KARAMANOS, A. J.; BILALIS, D.; SIDIRAS, N. Effects of reduced tillage and fertilization practices on soil characteristics, plant water status, growth and yield of upland cotton. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 190, p. 262-276, 2004.

KATSUBE, N.; IWASHITA, K.; TSUSHIDA, T.; YAMAKI, K.; KOBORI, M. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 68-75, 2003.

LEE, M. J.; CHOU, F. P.; TSENG, T. H.; HSIEH, M. H.; LIN, M. C.; WANG, C. J. Hibiscus protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion or nitricoxide donor. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 2130-2136, 2002.

LIN, H. H.; HUANG, H. P.; HUANG, C. C.; CHEN, J. H.; WANG, C. J. Hibiscus polyphenol-rich extract induces apoptosis in human gastric carcinoma cells via p53 phosphorylation and p38 MAPK/FasL cascade pathway. **Molecular Carcinogenesis**, v. 43, p. 86-99, 2005.

LIN, J. Y.; TANG, C. Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. **Food Chemistry**, v. 101, p. 140-147, 2007.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits; vegetables, and grains**. Publisher: CRC Press London, 1993; 144p.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOUUMA, O. G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, p. 571-577, 2005.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. da S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 639-644, 2006.

MONROY-ORTIZ, C.; CASTILLO-ESPANA, P. **Plantas Medicinales Utilizadas en el Estado de Morelos**, 2 ed., Publisher: CCNABIO, México, 2007; 405p.

MORTON, J. F.; 1987. **Roselle, *Hibiscus sabdariffa* L.** In: MORTON, J. F. *Fruits of Warm Climates*, (Ed), Miami, 1987; 286p.

MULLINS, G. L.; BENDELDT, E. S. **Poultry litter as a fertilizer and soil amendment**. Virginia Cooperative Extension, Blacksburg, 2001; 424p.

OLATUNDE, F. E.; FAKOYA, A. Free radical scavenging and antigenotoxic activities of natural phenolic compounds in dried flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 49, p. 1120-1128, 2005.

OLVERA-GARCÍA, V.; CASTANO-TOSTADO, E.; REZENDIZ-LOPEZ, R. I.; REYNOSO-CAMACHO, R.; GONZÁLEZ DE MEJÍA, E.; ELIZONDO, G.; LOARCA-PINA, G. *Hibiscus sabdariffa* L. extracts inhibit the mutagenicity in microsuspension assay and the proliferation of HeLa Cells. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 75-81, 2008.

RAIJ, B. **Avaliação da fertilidade do solo**. Editora: Ave Maria Ltda, Piracicaba, SP, 1983. 153 p.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; DE MELO, A. L. P. **Guia prático para uso SAEG**. Publisher: Leave, Viçosa, MG, 2008; 288p.

SOLER-RIVAS, C.; ESPÍN, J. C.; WICHERS, H. J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochemistry Analysis**, v. 11, p. 330-338, 2000.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BODESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Câncer Institute**, v. 82, p. 1107-1112, 1990.

STOCLET, J. C.; CHATAIGNEAU, T.; NDIAYE, M.; OAK, M. H.; EL BEDOUI, J.; CHATAIGNEAU, M.; VALÉRIE, B. S. K. Vascular protection by dietary polyphenols. **European Journal Pharmacology**, v. 500, p. 299–313, 2004.

STRACK, D.; WRAY, V. **The Anthocyanins**. Publisher: Chapman & Hall, London, 1986; 1-22p.

TSAI, P. J.; MCINTOSH, J.; PEARCE, P.; CAMDEN, B.; JORDAN, B. R. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. **Institute of Food Research**, v. 35, p. 351-356, 2002.

TSENG, T. H.; KAO, E. S.; CHU, C. Y.; CHOU, F. P.; LIN-WU, H. W.; WANG, C. J. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 35, p. 1159-1164, 1997.

TSENG, T. H.; HSU, J. D.; LO, M. H.; CHU, C. Y.; CHOU, F. P.; HUANG, C. L. Inhibitory effect of Hibiscus protocatechuic acid on tumor promotion in mouse skin. **Cancer Letter**, v. 126, p. 199- 207, 1998.

TSENG, T. H.; KAO, T. W.; CHU, C. Y.; CHOU, F. P.; LIN, W. L.; WANG, C. J. Induction of apoptosis by hibiscus protocatechuic acid in human leukemia cells via reduction of retinoblastoma phosphorylation and Bcl-2 expression. **Biochemistry Pharmacology**, v. 60, p. 307-315, 2000.

WANG, C. J.; WANG, J. M.; LIN, W. L.; CHU, C. Y.; CHOU, F. P.; TSENG, T. H. Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide induced hepatic toxicity in rats. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 38, p. 411-416, 2000.

WANG, J.; MAZZA, G. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 4183-4189, 2002.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. Analysis of phenolic plant metabolites, 1<sup>st</sup> ed., Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1994; cap. 3.



## **6 APÊNDICES**

(Fotos do experimento)



FIGURA 1. Experimento ano agrícola 2008/2009 logo após a instalação a campo.



FIGURA 2. Experimento ano agrícola 2009/2010 logo após a instalação a campo.





FIGURA 3. Planta de rosela com 60 dias após o transplante.



FIGURA 4. Plantas de rosela ao final do período vegetativo, evidenciado pelo aparecimento das primeiras flores.





FIGURA 5. Flores da rosela e cálices no início do desenvolvimento.



FIGURA 6. Cálices da rosela no ponto de colheita, aproximadamente 3,5 cm.





FIGURA 7. Final do período reprodutivo, folhas entraram em senescência e caíram.

## The biomass production and nutrient content of roselle leaves grown with poultry litter and organosuper

Diovany Doffinger Ramos<sup>1</sup>, Maria do Carmo Vieira, Néstor Antonio Heredia Zárate, Thiago de Oliveira Carnevali, Natália Hilgert de Souza and André Trento Luciano

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Rod. Dourados a Ithaim, km 12, 79825-070, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. \*Autor for correspondence. Email: diovany3@hotmail.com

**ABSTRACT.** The objective of this study was to evaluate the effects of poultry litter and Organosuper<sup>®</sup> with three modes of application on the biomass production and nutrient content of the leaves of roselle plants. The treatments in each crop cycle were in a factorial arrangement, 2 x 3+1, composed of a control and combinations of the two organic fertilizers (poultry litter (10 t ha<sup>-1</sup>) and Organosuper<sup>®</sup> (10 t ha<sup>-1</sup>) and the three application modes (surface, incorporated and surface + incorporated), in a randomized block design with four replicates. In the surface + incorporated mode, the organic fertilizers were applied as 5 t ha<sup>-1</sup> surface and 5 t ha<sup>-1</sup> incorporated. The highest productions of fresh and dry weight and number of calyxes were obtained for poultry litter in surface (10,776, 1,239 and 3,980,602 kg ha<sup>-1</sup>, respectively) and organosuper<sup>®</sup> incorporated (11,372, 1,308 and 4,405,075 kg ha<sup>-1</sup>, respectively) in the agricultural year 2009/2010. The increases in the fresh and dry weights of the calyxes, leaves, stems and roots, number of calyxes, leaf area and fibers in the agricultural year 2008/2009 in the poultry litter treatments. Nutrients concentrations in the dry weight of the roselle leaves were not affected by the organic fertilizer type or by the mode of application.

**Keywords:** *Hibiscus sabdariffa*, organic fertilizer, surface, incorporated.

### Produção de biomassa e teor de nutrientes em folhas de rosela cultivada com cama-de-frango e organosuper

**RESUMO.** O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da cama-de-frango e do organosuper<sup>®</sup> sob três modos de aplicação na produção de biomassa e nos teores de nutrientes nas folhas de plantas de rosela. Os tratamentos em cada ciclo de cultivo foram arrançados como fatorial 2 x 3+1, sendo constituídos pelas combinações de dois compostos orgânicos cama-de-frango (10 t ha<sup>-1</sup>) e organosuper<sup>®</sup> (10 t ha<sup>-1</sup>) e três modos de aplicação (cobertura, incorporada e cobertura + incorporada) mais a testemunha, no delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro repetições. As maiores produções de massas frescas e secas de cálices e o número de cálices foram obtidos para cama-de-frango em cobertura (10.776, 1.239 e 3.980.602 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) e organosuper<sup>®</sup> incorporado (11.372, 1.308 e 4.405.075 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente) no ano agrícola 2009/2010. As maiores produções de massas frescas e secas de cálices, folhas, caules e raízes, número de cálices, área foliar e fibras no ano agrícola 2008/2009 foram obtidas com a cama-de-frango. Os teores de nutrientes não foram influenciados pelos resíduos orgânicos nem pelo modo de aplicação.

**Palavras-chave:** *Hibiscus sabdariffa*, resíduo orgânico, cobertura, incorporado.

#### Introduction

The roselle plant (*Hibiscus sabdariffa* L., Malvaceae) is originally from India, Sudan and Malaysia and has been introduced to eastern Africa and Central America. In Brazil, it has adapted to several regions and can also be found in residential gardens. Its leaves and fruits are widely used for human and animal food, and the

stems are a source of fiber for the textile and paper industries. The roselle plant is an important source of the vitamins A, B and C, iron, phosphorus and protein; it can be used as a placement for animal protein. Its calyx is used in jelly, paste, sweets, syrup and wine preparation; its manufacturing residues can also produce high quality vinegar (CHANG et al., 2003; FAGBENRO,

2005; MUKHTAR, 2007; OTTAI et al., 2006).

In highly weathered tropical soils, organic matter is of great importance for providing nutrients to crops, the retention of cations, the complexation of toxic elements and micronutrients (FRANCHINI et al., 2001; SIQUEIRA NETO et al., 2009), structural stability (SALTON et al., 2008), infiltration and water retention, aeration and microbial activity; thus, organic matter content constitutes a fundamental component of the productive capacity of soil. To provide nutrients for plants, the organic matter added to the soil must be decomposed by soil microorganisms, and the nutrients within organic molecules must be released (mineralized). This mineralization process is influenced by the quantity and quality of the organic material and the environmental conditions, including temperature, moisture, aeration and acidity (RASSE et al., 2005).

Management practices can affect various soil properties, such as the organic matter content, pH and water availability, in addition to affecting the rate of the decomposition of the organic matter because the management affects the size of the particles of organic matter and their location in the soil (surface or incorporated). In addition, nitrogen availability for decomposition can locally limit the population and activity of the microbial decomposers because of insufficient contact of the organic matter with the soil (GIACOMINI et al., 2008; POTTHOFF et al., 2005).

Poultry litter is a low cost organic waste that has been widely used to supply the nutrients required by plants because of its chemical composition (SANTOS et al., 2004). It is primarily composed of sawdust and rice hulls, but the contents may vary depending on the handling, feed composition and waste of the bird feeders and drinkers. The Brazilian broiler production system allows the reuse of litter in one to eight lots. Thus, attention should be paid to the quality of the litter used in order to achieve the goal of the replenishment of nutrients in the soil (RAMOS et al., 2011). According to producers, each broiler generates 3.4 kg of litter as waste during eight cycles of 45 to 60 days each.

Organosuper<sup>®</sup> is a multi-nutrient organic material that is produced using a unique bioextraction technique. The composting

formula, completed after approximately 15 days, generates temperatures up to 100 degrees for an uninterrupted period of more than 24 hours, ensuring the sterility of the product, which is free of pathogens, seeds and other waste that is undesirable for fertilization. The Organoeste units of Dourados, Mato Grosso do Sul State, and Andradina, São Paulo State, recently received both national and international certification for their products by ECOCERT BRAZIL, which governs the certification of organic products, and by the COFRAC French National Agency, according to ISO 65 Guide and based on the 007/99 Normative Instruction of the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA).

Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of poultry litter and Organosuper<sup>®</sup> with three modes of application on the biomass production and nutrient content of the leaves of roselle plants.

#### Material and methods

At the Medicinal Plant Nursery (MPN) of the Federal University of Grande Dourados (UFGD) in Dourados, Mato Grosso do Sul State, two experiments were performed with roselle: one in the agricultural year of 2008/2009 and another in 2009/2010. This area is located in the southern part of Mato Grosso do Sul State at an average altitude of 452 m and at 22°14'16" S latitude and 54°49'2" W longitude. The climate is Cwa, by the Köppen classification system. The soil, originally from Cerrado vegetation, is classified as distroferic Red Latosol, with a sandy, heavy texture and flat topography.

The treatments in each crop cycle were in a factorial arrangement, 2 x 3+1, composed of a control and combinations of the two organic fertilizers (poultry litter (10 t ha<sup>-1</sup>) and Organosuper<sup>®</sup> (10 t ha<sup>-1</sup>) and the three application modes (surface, incorporated and surface + incorporated), in a randomized block design with four replicates. In the surface + incorporated mode, the organic fertilizers were applied as 5 t ha<sup>-1</sup> surface and 5 t ha<sup>-1</sup> incorporated. To compare the control with the poultry litter and Organosuper<sup>®</sup>, the following contrasts were performed:

C<sub>1</sub> = (incorporated poultry litter + poultry litter on the surface + poultry litter incorporated/surface)/3 - control and C<sub>2</sub> = (incorporated organosuper + organosuper on the

surface + organosuper incorporated/surface)/3 – control.

The total area of the plots was 6.0 m<sup>2</sup> (1.5 m of width x 4.0 m of length) with a useful area of 4.0 m<sup>2</sup> (1.0 m of width and 4.0 m of length). The plants were grown in double rows in the plots, with spacing of 0.80 m between the plants and 0.70 m between the rows, totaling 16,666 plants ha<sup>-1</sup>. Two lines of plants with the same spacing were cultured around the entire experiment as a borderline buffer.

The propagations were by indirect sowing and were begun on 12.14.2008 and 11.20.2009 for the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively, with harvested seeds of cultivated plants from the MPN, UFGD. The seedlings were grown in polystyrene trays of 128 cells with Plantmax<sup>®</sup> substrate; they were kept in a protected environment with 50% Sombrite<sup>®</sup> and received daily irrigation. When the seedlings were approximately 10 cm in height, they were transplanted to the soil plots on 01.24.2009 and 12.27.2009 for the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively.

The soil was prepared a week before the transplant by plowing, harrowing and the elevation of the plots with two passes of a bed shaper off set rotary cultivator. On the second pass of the implement, the poultry litter and Organosuper<sup>®</sup> were incorporated at different doses; immediately after the transplant, the poultry litter and Organosuper<sup>®</sup> were scattered on the surface of the appropriate plots. Lime was not used as a soil amendment during the crop cycle, nor any other fertilization technique.

When the plants started flowering at 89 and 95 days after transplant (DAT) for agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively, four plants were harvested from each plot, pulling the entire plant. Then, the stems and the leaves were separated to determine the leaf area and the fresh and dry weights. The calyxes from the remaining plants from each plot were harvested on two days, at 119 and 158 DAT for the agricultural year 2008/2009 and 139 and 185 DAT for the agricultural year 2009/2010; only calyxes that were greater 3.5 cm were harvested. The harvesting was done manually using pruning shears to cut the stems just below the calyx. The calyxes were counted and weighed, and after the last harvest, the number and fresh weight were totaled.

To obtain the dry weight, the weighed calyxes, leaves, stems and roots were cut and distributed separately in paper bags. The bags were put into an oven with forced air circulation at a temperature of 60°C ± 5°C and dried until a constant weight was achieved.

The phosphorus (P) concentrations of the dried leaves and calyxes were determined using the colorimetric molybdovanadate method; the potassium (K) concentrations were determined by flame photometry, and the calcium (Ca), magnesium (Mg), iron (Fe), copper (Cu), manganese (Mn) and zinc (Zn), concentrations by atomic absorption spectrometry. To determine the total nitrogen (N) concentrations, the samples were subjected to sulfuric digestion and then N concentrations were measured by Kjeldahl distillation (MALAVOLTA et al., 1997). The percentage of crude fiber in the stems was determined using the methodology described by AOAC (1995), and the amount of crude fiber was estimated in kg ha<sup>-1</sup> using the expression: (% fiber x fresh weight of stems)/100.

Individual and combined variance analysis was completed for each measurement. A Tukey test was applied at 5% probability to compare the means, and Dunnett's test was used to compare each treatment with the control. At test was used for comparison of the contrasts. Analysis of contrasts was performed to separate specific treatments, and the trends and stability of these contrasts were also evaluated. All statistical analysis was completed using SAEG (RIBEIRO JUNIOR; MELO, 2009).

## Results and discussion

The conjoint variance analysis of the experiments showed that there was a significant interaction between treatment and years for the fresh and dry weight of the leaves, stems, roots and calyxes, the number of calyxes, the leaf area and the fiber; therefore, individual analyses were performed for these experimental variables. For N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn and Zn concentrations, there was no significant interaction; for that reason, the comparisons between organic fertilizer type, mode of application and control were made using the average of the two years for the conjoint analysis of the experiments.

Variations in production between years are expected in upland conditions due to the rainfall



variability (BLAISE, 2006). Lower rainfalls were observed in March (70 mm), April (0 mm) and May (49 mm) for the year 2008/2009, than in March (125 mm), April (56 mm) and May (169 mm) of the agricultural year 2009/2010. It is likely that the higher rainfall and better rain fall distribution of the agricultural year 2009/2010 were responsible for the higher fresh and dry weights of the calyxes, leaves and stems, higher numbers of calyxes and higher leaf area for that year. Environmental variability may prevent the phenotypic realization of the potential of a genotype (BRADOW; DAVIDONIS, 2000).

The fresh and dry weight and the number of calyxes were significantly influenced by the interaction between the organic fertilizer type and the mode of application in the agricultural year 2009/2010, with the highest production for poultry litter on the surface and for Organosuper® incorporated into the soil, which were not statistically different from the incorporated/surface application mode (Table 1).

**Table 1.** Fresh and dry weight of calyx and calyxes number of roselle plants grown under two sources of organic fertilizer

and three application modes in the agricultural year 2009/2010. City of Dourados – UFGD.

Organic fertilizer	Fresh weight of calyx (kg ha <sup>-1</sup> )		
	Incorporated	surface	Inc.+ Sur.
Poultrylitter	8,136 aA	10,776 bB	9,648 aAB
Organosuper®	11,372 bB	7,245 aA	10,768 aB
Dry weight of calyx (kg ha <sup>-1</sup> )			
Poultrylitter	936 aA	1,239 bB	1,110 aAB
Organosuper®	1,308 bB	833 aA	1,238 aB
Calyxes number (million ha <sup>-1</sup> )			
Poultrylitter	3,176509 aA	3,980602 bB	3,770169 aAB
Organosuper®	4,405075 bB	2,627561 aA	4,205940 aB

Means followed by the same lowercase in columns and capital letters in the lines, for each feature, do not differ by Tukey and F tests, respectively, at 5% probability.

The fresh and dry weight of the calyxes and the number of calyxes were greater than in the controls for all treatments except for Organosuper® on the surface in the year 2009/2010 (Table 2). These results suggest that the organic fertilizers provided organic mineral products, including P and K, through increased soil microbial activity. Changes can occur in the aeration and the water holding capacity of soil in response to organic decomposition, (HEREDIA ZÁRATE et al., 2003), favoring the growth and development of plants.

**Table 2.** Fresh and dry weight of leaves, stems, roots and calyx, calyxes number, leaf area and fibers in the stem of roselle plants grown under two sources of organic fertilizer and three application modes plus control, in the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010. City of Dourados - UFGD.

Organic fertilizer	Application mode	Fresh weight of leaf (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of leaf (kg ha <sup>-1</sup> )	
		2008/2009	2009/2010	2008/2009	2009/2010
Control	Incorporated	7,581 a	11,962 a	1,115 a	1,760 a
		13,013 b	20,222 b	1,915 b	2,976 b
		12,270 b	20,013 b	1,806 b	2,945 b
Poultry litter	Inc. + Sur.	11,692 b	17,879 b	1,721 b	2,631 b
		8,744 a	19,956 b	1,287 a	2,937 b
		8,321 a	19,397 b	1,224 a	2,855 b
Organosuper®	Inc. + Sur.	9,603 b	17,553 b	1,413 b	2,583 b
		11.16	8.48	11.16	8.48
		Fresh weight of stem (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of stem (kg ha <sup>-1</sup> )	
Control	Incorporated	16,306 a	14,128 a	2,969 a	2,572 a
		30,185 b	29,018 b	5,496 b	5,283 b
		28,349 b	26,969 b	5,162 b	4,910 b
Poultry litter	Inc. + Sur.	27,777 b	23,537 b	5,057 b	4,285 b
		19,690 a	25,632 b	3,585 a	4,667 b
		18,323 a	25,877 b	3,336 a	4,711 b
Organosuper®	Inc. + Sur.	20,970 b	22,601 b	3,818 b	4,115 b
		11.24	12.62	11.23	12.60
		Fresh weight of root (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of root (kg ha <sup>-1</sup> )	
Control	Incorporated	1,185 a	727 a	363 a	216 a
		2,038 b	959 a	531 b	285 a
		2,023 b	1,003 b	567 b	298 b
Poultry litter	Inc. + Sur.	1,890 b	1,045 b	517 b	311 b
		1,360 a	1,122 b	412 a	333 b
		1,197 a	1,020 b	358 a	303 b
Organosuper®	Inc. + Sur.	1,467 a	1,049 b	500 b	312 b
		10.59	14.54	11.45	14.54
		Fresh weight of calyx (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of calyx (kg ha <sup>-1</sup> )	
Control	Incorporated	3,427 a	5,780 a	394 a	664 a
		3,914 a	8,088 b	438 a	930 b
		4,730 a	10,306 b	529 a	1,185 b
Poultry litter	Inc. + Sur.	5,464 b	9,648 b	612 b	1,109 b
		2,908 a	11,372 b	334 a	1,307 b
		3,132 a	6,741 a	360 a	775 a
Organosuper®	Inc. + Sur.	3,046 a	10,768 b	350 a	1,238 b

C.V. (%)		24.24	9.83	24.07	9.82
		Number of calyxes (million ha <sup>-1</sup> )		Leaf area (cm <sup>2</sup> )	
Control		4,1488740 a	4,2252693 a	9,853 a	15,580 a
Poultry litter	Incorporated	4,1986838 a	4,3176508 b	15,575 b	23,242 b
	surface	4,2031278 a	4,3980602 b	15,526 b	25,074 b
	Inc. + Sur.	4,2463642 b	4,3770169 b	14,795 b	22,711 b
Organosuper*	Incorporated	4,1297092 a	4,4405075 b	11,385 a	25,220 b
	Surface	4,1316535 a	4,2627561 a	10,682 a	23,500 b
	Inc. + Sur.	4,1416525 a	4,4205940 b	12,152 a	22,122 b
C.V. (%)		22.15	10.97	10.60	10.14
		Fiber (kg ha <sup>-1</sup> )			
Control		678 a	155 a		
Poultry litter	Incorporated	1,255 b	286 b		
	surface	1,179 b	269 b		
	Inc. + Sur.	1,155 b	263 b		
Organosuper*	Incorporated	819 a	187 a		
	Surface	762 a	174 a		
	Inc. + Sur.	872 b	199 b		
C.V. (%)		11.24	19.28		

Means followed by at least one same letter in each column do not differ at 5% probability by Dunnett test.

The fresh and dry weight production of the leaves of the roselle plants were greater than in the control for all treatments, except for Organosuper<sup>®</sup> incorporated or on the surface in the agricultural year 2008/2009 (Table 2). The fresh and dry weight production of the leaves were 27.88 and 27.89%, respectively, and were higher for plants grown in soil with poultry litter compared with those grown in soil with Organosuper<sup>®</sup> in the agricultural year 2008/2009 (Table 3). Contrast 1 showed that the poultry litter increased the fresh weight of the leaves for agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively, by 4,744 and 7,409 kg ha<sup>-1</sup>, and by 698 and 1,091 kg ha<sup>-1</sup> for the dry weight of leaves. However, contrast 2 showed that Organosuper<sup>®</sup> increased the fresh and dry weight production of the leaves by 7,006 and 1,031 kg ha<sup>-1</sup> for the agricultural year 2009/2010 only (Table 3). In contrast, the fresh and dry weight of leaves was not influenced significantly by the modes of application of the organic fertilizers (Table 4).

The fresh and dry weight of the stems from roselle plants of all treatments, except for Organosuper<sup>®</sup> incorporated or on the surface in the agricultural year 2008/2009, were higher than the control (Table 2). The fresh and dry weights of the stems were, respectively, 31.66 and 31.65% higher in the plants grown in soil with poultry litter than in those grown in the soil with Organosuper<sup>®</sup> in the agricultural year 2008/2009 (Table 3). Contrast 1 showed that the poultry litter increased the fresh weight of the stems for agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively, by 12,464 and 12,379 kg ha<sup>-1</sup> and increased the dry weight by 2,269 and 2,254 kg ha<sup>-1</sup>. For Organosuper<sup>®</sup>, contrast 2 showed increases in fresh weight of stems for the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively, of 3,354 and 10,575 kg ha<sup>-1</sup> and increases in the dry weight of 611 and 1,925 kg ha<sup>-1</sup>. However, the fresh and dry weight productions of the stems were not significantly affected by the modes of application of the organic fertilizers (Table 4).

**Table 3.** Fresh and dry weight of leaves, stems, roots and calyx, calyxes number, leaf area, fiber content on stem and nitrogen content of leaves of roselle plants grown under two sources of organic fertilizers, in the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010. City of Dourados – UFGD.

Organic fertilizer	Fresh weight of leaf (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of leaf (kg ha <sup>-1</sup> )		
	2008/2009	2009/2010	2008/2009	2009/2010	
Poultry litter (pl)	12,325 a	19,371 a	1,814 a	2,851 a	
Organosuper <sup>®</sup>	8,889 b	18,968 a	1,308 b	2,792 a	
Control	7,581	11,962	1,116	1,760	
C <sub>1</sub> = pl - control	4,744	7,409	698	1,091	
C <sub>2</sub> = or - control	1,309 <sup>ns</sup>	7,006	193 <sup>ns</sup>	1,031	
		Fresh weight of stem (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of stem (kg ha <sup>-1</sup> )	
Poultry litter (pl)	28,771 a	26,508 a	5,238 a	4,826 a	
Organosuper <sup>®</sup>	19,661 b	24,703 a	3,580 b	4,498 a	
Control	16,307	14,128	2,969	2,572	
C <sub>1</sub> = pl - control	12,464	12,379	2,269	2,254	
C <sub>2</sub> = or - control	3,354	10,575	611	1,925	
		Fresh weight of root (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of root (kg ha <sup>-1</sup> )	
Poultry litter (pl)	1,983 a	1,003 a	538 a	298 a	
Organosuper <sup>®</sup>	1,341 b	1,064 a	423 b	316 a	
Control	1,188	727	363	216	
C <sub>1</sub> = pl - control	798	276	176	82	

C <sub>2</sub> = or - control	156 <sup>ns</sup>	337 <sup>*</sup>	61 <sup>ns</sup>	100 <sup>*</sup>
	Leaf area (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )		Fibers (kg ha <sup>-1</sup> )	
Poultry litter (pl)	15,299 a	23,676 a	1,197 a	1,019 a
Organosuper <sup>*</sup>	11,406 b	23,614 a	818 b	1,004 a
Control	9,853	15,580	678	635
C <sub>1</sub> = pl - control	5,446	8,096	519	384 <sup>ns</sup>
C <sub>2</sub> = or - control	1,553 <sup>ns</sup>	8,035 <sup>*</sup>	140 <sup>*</sup>	369 <sup>*</sup>
	Fresh weight of calyx (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of calyxes (kg ha <sup>-1</sup> )	
Poultry litter (pl)	4,703 a	-	527 a	-
Organosuper <sup>*</sup>	3,029 b	-	348 b	-
Control	3,427	-	394	-
C <sub>1</sub> = pl - control	1,276	-	133	-
C <sub>2</sub> = or - control	-398	-	-46	-
	Calyxes number (million ha <sup>-1</sup> )			
Poultry litter (pl)	2,160,586 a	-	-	-
Organosuper <sup>*</sup>	1,343,384 b	-	-	-
Control	1,488,740	-	-	-
C <sub>1</sub> = pl - control	671,846	-	-	-
C <sub>2</sub> = or - control	-145,356	-	-	-

Means followed by at least one same letter in each column do not differ at 5% probability by the F test. <sup>\*</sup>,<sup>ns</sup>: contrasts significant and no significant, respectively, at 5% probability by t test.

**Table 4.** Fresh and dry weight of leaves, stems, roots and calyx, calyxes number, leaf area, fiber in the stem and nitrogen content of leaves of roselle plants grown under three application modes in the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010. City of Dourados - UFGD.

Application mode	Fresh weight of leaf (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of leaf (kg ha <sup>-1</sup> )	
	2008/2009	2009/2010	2008/2009	2009/2010
Incorporated	10,878 a	20,089 a	1,601 a	2,956 a
Surface	10,296 a	19,705 a	1,515 a	2,900 a
Inc. + Sur.	10,648 a	17,716 a	1,567 a	2,607 a
	Fresh weight of stem (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of stem (kg ha <sup>-1</sup> )	
Incorporated	24,938 a	27,325 a	4,540 a	4,975 a
Surface	23,336 a	26,423 a	4,249 a	4,811 a
Inc. + Sur.	24,373 a	23,069 a	4,437 a	4,200 a
	Fresh weight of root (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of root (kg ha <sup>-1</sup> )	
Incorporated	1,699 a	1,041 a	471 a	309 a
Surface	1,610 a	1,012 a	463 a	301 a
Inc. + Sur.	1,678 a	1,047 a	508 a	311 a
	Fresh weight of calyx (kg ha <sup>-1</sup> )		Dry weight of calyx (kg ha <sup>-1</sup> )	
Incorporated	3,412 a	-	386 a	-
Surface	3,932 a	-	445 a	-
Inc. + Sur.	4,255 a	-	481 a	-
	Calyxes number (million ha <sup>-1</sup> )		Leaf area (cm <sup>2</sup> plant <sup>-1</sup> )	
Incorporated	16,419,65 a	-	13,480 a	24,231 a
Surface	16,739,07 a	-	13,104 a	24,287 a
Inc. + Sur.	19,400,84 a	-	13,473 a	22,416 a
	Fibers (kg ha <sup>-1</sup> )			
Incorporated	1,037 a	1,062 a	-	-
Surface	970 a	1,013 a	-	-
Inc. + Sur.	1,014 a	959 a	-	-

Means followed by at least one same letter in each column do not differ in the level of 5% probability by Tukey test.

The fresh and dry weights of the roots of the roselle plants for all treatments were greater than in the control, except for Organosuper<sup>\*</sup> incorporated or on the surface in the agricultural year 2008/2009 (Table 2). In the agricultural year 2008/2009, the fresh and dry weight production of the roots were, respectively, 32.38 and 21.38% higher in plants grown in soil with poultry litter than in those grown in soil with Organosuper<sup>\*</sup> (Table 3). Contrast 1 showed that the poultry litter increased the fresh weight of the roots for agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively, by 798 and 276 kg ha<sup>-1</sup> and the dry weight of the roots by 176 and 82 kg ha<sup>-1</sup>. However, contrast 2 showed that the Organosuper<sup>\*</sup> resulted

in increases in the fresh and dry weight of the roots by 337 and 100 kg ha<sup>-1</sup> for the agricultural year 2009/2010 only. As for the leaves and stems, the fresh and dry weight of the roots was not affected significantly by the mode of application of the organic fertilizers (Table 4).

The leaf areas of the roselle plants were greater than in the control for the poultry litter incorporated, poultry litter on the surface and poultry litter incorporated + on the surface treatments in the agricultural year 2008/2009 and for all of the treatments in the agricultural year 2009/2010 (Table 2). The leaf areas for plants grown in soil with poultry litter in the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010 were,

respectively, 35.59 and 33.97% higher than those grown in soil with Organosuper® (Table 3). Contrast 1 suggested that the poultry litter increased the leaf area by 5,446 and 8,096 cm<sup>2</sup> for the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively; however, contrast 2 suggested that Organosuper® increased the leaf area by 8,035 cm<sup>2</sup> for the agricultural year 2009/2010 only. Moreover, the leaf area was not influenced significantly by the mode of application of the organic fertilizers (Table 4).

The fiber production of the roselle plants in all treatments was higher than the control, except for Organosuper® incorporated or on the surface in the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010 (Table 2). In the agricultural year 2008/2009, the fiber production of plants grown in soil with poultry litter was 31.66% higher than in those grown in soil with Organosuper® (Table 3). Contrast 1 suggested that the poultry litter increased fiber production by 519 kg ha<sup>-1</sup> of fiber in the agricultural year 2008/2009. Contrast 2 showed that Organosuper® increased fiber production by 140 and 369 kg ha<sup>-1</sup> of fiber for the agricultural years 2008/2009 and 2009/2010, respectively. However, fiber production was not significantly influenced by the mode of application of the organic fertilizers (Table 4).

The increases in the fresh and dry weights of the calyxes, leaves, stems and roots, number of calyxes, leaf area and fibers in the agricultural year 2008/2009 in the poultry litter treatments are likely because of improvement in the soil physical properties, an increase in the water retention in the soil and water availability to plants (KARAMANOS et al., 2004) and increases in soil nutrients (BLAISE, 2006). Poultry litter likely provided high concentrations of N, P and K in the soil solution for plant growth and development; the poultry litter used in the agricultural year 2008/2009 had higher concentrations of these nutrients (3.15, 3.07 and 0.85% of N, P and K, respectively) than that used in the agricultural year 2009/2010 (2.52, 1.07 and 0.18% of N, P and K, respectively). Singh et al. (2006) reported that an increase in the supply of P results in higher concentrations of free and bound inorganic solutes. The combined effects of better nutrition and water availability in the plots with poultry litter resulted in higher yields. Furthermore, in rain fed areas of the tropics with high temperatures and evaporation, the addition of poultry litter allows better retention of soil moisture for long periods of irregularly distributed rainfall.

The mode of application of the organic fertilizers had no statistically significant effects on any of the characteristics evaluated in the two agricultural years, except for the fresh and dry weight of calyxes and the number of calyxes for the agricultural year 2009/2010. The degree of contact required for the decomposition of organic matter depends mainly on the C:N ratio of the organic material added to soil (RECOUS et al., 1995). With lower N levels (high C:N) in the organic matter, the influence of these two factors on the decomposition rate in the soil will be higher because the contact with the organic matter regulates the availability of the soil N to the microorganisms involved in decomposition. The degree of contact controls the flow of water and nutrients, especially NO<sub>3</sub>, from the soil to the sites of organic matter decomposition (GIACOMINI et al., 2008). Therefore, one can assume that because the C:N ratios of both the poultry litter and Organosuper® are low (7.64 and 8.75 for poultry litter in the years of 2008/2009 and 2009/2010, respectively, and 7.57 for Organosuper®), decomposition was not favored by incorporating the fertilizer into the soil. It is likely that the N concentration present in the organic matter supplied the N demand of the microorganisms active in the decomposition of the carbonaceous constituents. In addition, the N from the mineralization of the soil organic matter may have also contributed to meeting the microbial need for this nutrient.

The nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), iron (Fe), copper (Cu), manganese (Mn) and zinc (Zn) concentrations in the dry weight of the roselle leaves were not affected by the organic fertilizer type or by the mode of application, with mean concentrations of 38.69, 0.90, 1.94, 12.88, 3.10 g kg<sup>-1</sup>; 1,694.00, 15.63, 346.35 and 21.97 mg kg<sup>-1</sup>, respectively.

## Conclusion

Under the conditions studied, it was concluded that roselle plants must be cultivated in soil fertilized with chicken manure, independent of the mode of application, to increase the fresh and dry weight of calyxes, leaves, stems and roots, the number of calyxes, the leaf area and the fibers.

The nutrient concentrations were not affected by the organic fertilizer type or by the mode of application.

## Acknowledgements

The authors offer thanks to CNPq, for the Doctoral Studies scholarship awarded to the first author, and to Fundect-MS, for financial support.

## References

- AOAC-Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis of the AOAC**. Washington, D.C.: AOAC, 1995.
- BLAISE, D. Yield, boll distribution and fiber quality of hybrid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) as influenced by Organic and Modern Methods of Cultivation. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 192, n. 4, p. 248-256, 2006.
- BRADOW, J. M.; DAVIDONIS, G. H. Quantitation of fiber quality and cotton production-processing interface: a physiologists perspective. **Journal of Cotton Science**, v. 4, n. 1, p. 34-64, 2000.
- CHANG, C. C.; JENG, D. H.; SAN, F. W.; HUEI, C. C.; MON, Y. Y.; ERL, S. K.; YUNG, C. H.; CHAU, J. W. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5472-5477, 2003.
- FAGBENRO, O. A. Soybean meal substitution with roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed meal in dry practical diets for fingerlings of the African catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal of Animals and Veterinary Advances**, v. 4, n. 4, p. 473-477, 2005.
- FRANCHINI, J. C.; MEDA, A. R.; CASSIOLATO, M. E.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A. Plant residue extracts potential for lime mobility in the soil using a biological method. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 357-360, 2001.
- GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; MIOLA, E. C. C.; RECOUS, S. Carbon mineralization of straw and pig manure with and without incorporation in soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, Special issue, p. 2661-2668, 2008.
- HEREDIA ZÁRATE, N. A.; VIEIRA, M. C.; BRATTI, R. Effects of chicken manure and harvesting date on "Todo Ano" green onion yield and gross income. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 33, n. 2, p. 73-78, 2003.
- KARAMANOS, A. J.; BILALIS, D.; SIDIRAS, N. Effects of reduced tillage and fertilization practices on soil characteristics, plant water status, growth and yield of upland cotton. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 190, n. 4, p. 262-276, 2004.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, C. G.; OLIVEIRA, S. A. **Assessment of nutritional status of plants: principles and applications**. Piracicaba: Potafós, 1997.
- MUKHTAR, M. A. The effect of feeding rosella (*Hibiscus sabdariffa*) seed on broiler chick's performance. **Research Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 2, p. 21-23, 2007.
- OTTAI, M. E. S.; ABOUD, K. A.; MAHMOUD, I. M.; EL-HARIRI, D. M. Stability analysis of roselle cultivars (*Hibiscus sabdariffa* L.) under different nitrogen fertilizer environments. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 2, n. 3, p. 333-339, 2006.
- POTTHOFF, M.; DYCKMANS, J.; FLESSA, H.; MUHS, A.; BEESE, F.; JOERGENSEN, R. G. Dynamics of maize (*Zea mays* L.) leaf straw mineralization as affected by the presence of soil and the availability of nitrogen. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 7, p. 1259-1266, 2005.
- RAMOS, D. D.; VIEIRA, M. do C.; ZÁRATE, N. A. H.; YAMAMOTO, N. T.; CARNEVALI, T. O.; SOUZA, N. H. Spacings between plants with chicken manure in Roselle crop. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, n. 4, p. 695-700, 2011.
- RASSE, D. P.; RUMPEL, C.; DIGNAC, M. F. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilization. **Plant and Soil**, v. 269, n. 1-2, p. 341-356, 2005.
- RECOUS, S.; ROBIN, D.; DARWIS, D.; MARY, B. Soil inorganic N availability: effect on maize residue decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, n. 12, p. 1529-1538, 1995.
- RIBEIRO JUNIOR, J. I.; MELO, A. L. P. **Practical guide for SAEG use**. Editora Folha Artes Gráficas Ltda, Viçosa, 2009. 287 p.
- SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; FABRICIO, A. C.; MACEDO, M. C. M.; BROCH, D. L. Soil aggregation and aggregate stability under crop-pasture systems in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 11-21, 2008.
- SANTOS, C. C.; BELLINGIERI, P. A.; FREITAS, J. C. Effect of the application of chicken litter composts on chemical properties of a Typic Haplorthox soil cultivated with sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Científica**, v. 32, n. 2, p. 134-140, 2004.
- SINGH, V.; PALLAGHY, C. K.; SINGH, D. Phosphorus nutrition and tolerance of cotton to water stress: II. Water relations, free and bound water and leaf expansion rate. **Field Crops Research**, v. 96, n. 2, p. 199-206, 2006.
- SIQUEIRA NETO, M.; PICCOLO, M. C.; ERIC SCOPEL, E.; COSTA JUNIOR, C.; CERRI, C. C.; BERNOUX, M. Total soil carbon and chemical attributes under different land uses in the Brazilian savanna. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 4, p. 709-717, 2009.

Received on March 17, 2011.

Accepted on June 1, 2011.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

