



**LUIS FELIPE LIMA E SILVA**

**HORTALIÇAS NÃO CONVENCIONAIS:  
QUANTIFICAÇÃO DO DNA, CONTAGEM  
CROMOSSÔMICA, CARACTERIZAÇÃO  
NUTRICIONAL E FITOTÉCNICA**

**LAVRAS - MG**

**2015**

**LUIS FELIPE LIMA E SILVA**

**HORTALIÇAS NÃO CONVENCIONAIS: QUANTIFICAÇÃO DO DNA,  
CONTAGEM CROMOSSÔMICA, CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E  
FITOTÉCNICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Luciane Vilela Resende

Coorientadores

Dra. Vânia Helena Techio

Dr. Wilson Magela Gonçalves

**LAVRAS - MG**

**2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Luis Felipe Lima e.

Hortaliças Não Convencionais: Quantificação do DNA,  
Contagem Cromossômica, Caracterização Nutricional e Fitotécnica  
/ Luis Felipe Lima e Silva. – Lavras : UFLA, 2016.

141 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Luciane Vilela Resende.

Bibliografia.

1. hortaliças tradicionais. 2. germoplasma. 3. composição  
nutricional. 4. indicativos de cultivo. 5. melhoramento vegetal. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**LUIS FELIPE LIMA E SILVA**

**HORTALIÇAS NÃO CONVENCIONAIS: QUANTIFICAÇÃO DO DNA,  
CONTAGEM CROMOSSÔMICA, CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E  
FITOTÉCNICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 23 de julho de 2015.

Dr. Juliano Tadeu Vilela de Resende	UNICENTRO
Dra. Kátia Ferreira Marques de Resende	UFLA
Dra. Rita de Cássia Mirela Resende Nassur	EMBRAPA
Dr. Wilson Roberto Maluf	UFLA

Dra. Luciane Vilela Resende  
Orientadora

**LAVRAS – MG**  
**2015**

*Aos meus pais, Maria Carmen de Lima e Silva; e Manuel Branco da Silva,  
dedico todos os trabalhos e conquistas da minha vida, com admiração, amor,  
carinho, gratidão e respeito.*

*Em memória dos meus queridos avós, Ana Adelina e José Gondin; Germana  
Branco e João Silva, os quais sobrevivem em memória e saudades.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Presto aqui meus agradecimentos aos professores Luciane Vilela Resende, Wilson Roberto Maluf e Wilson Magela Gonçalves, por sempre elucidarem meu caminho por meio das orientações e conhecimentos passados, contribuindo em muito para a minha formação profissional e pessoal. A vocês dedico este trabalho com minha sincera gratidão e respeito.

À professora Vânia Helena Techio, pelo auxílio, orientação e imensuráveis incentivos a mim dispensados. A todos os companheiros da citogenética, em especial ao Guilherme Braz e à Kátia Ferreira, pela ajuda, força, enzimas, e técnicas passadas, as quais representaram muitas das vezes, uma luz em meu caminho.

Aos primos Ana Cristina Lima da Silva, João Augusto de Lima Ferreira, Luciana Lima Ferreira e Tiago Vitor Lima da Silva. Às tias Ana Maria de Lima, Maria José de Lima e Rita de Lima. Aos meus queridos avós, Ana Adelina e José Gondin. Com vocês cresci e construí meus conceitos e valores de vida, por isso, dedico a todos, este trabalho e minha gratidão, com grande carinho.

A toda minha família, que apesar da distância física, faz também parte de minhas conquistas. Aos primos Ana Rita, João Macara, Joana Macara, Sandrine Sanches, Sofia Silva e Suzana Silva. Aos tios Antar, Luís (meu padrinho), Natércia e Zeca. Aos meus avós, João e Germana, bem como a todos os meus parentes e antepassados portugueses.

Aos amigos conterrâneos, André Mendes, André Vitorino, Bruno Barbosa, Cássio Pires, Diego Lima, Eduardo Mesquita, Fernando Cortez, Jésus Rafael, Luiz Hipólito, Leandro Avelar, Luiz Otávio, Marcelo Teixeira, Nálisson Moretti, Patrick Carvalho, Rafael Maluf, Renato Sérgio, Stênio Xavier, Tiago Mendonça, e a todos com quem compartilhei bons momentos de alegrias, boas

conversas, e claro, com quem também construí muitos dos meus conceitos e valores de vida. À Belinha, fiel amiga canina.

Aos irmãos de orientação, Ana Carolina Prestes, Ana Luísa, Andrew Kim, Carlos Agostinho Balate, Carolina Samartini, Douglas Correa de Souza, Gabriele Mikami Costa, Krisnanda Castro, Marcos Carvalho, Marcos Rezende, Inara Martins, Isadora Bordini, Osvaldo Lucena, Messulan Meira, Sylvia Vieira e Thiago Assis. Ao pessoal da horta, Josemar, Paulo César, Sr. Pedro e Stéfany Martins. A todos vocês, pelo companheirismo, ajudas prestadas e amizades formadas.

À Universidade Federal de Lavras, em especial, ao Departamento de Agricultura, Departamento de Biologia e Departamento de Ciências dos Alimentos. A CAPES, pela concessão da bolsa ao pesquisador. À FAPEMIG e CNPq, pela concessão de recursos Financeiros. À Hortiagro Sementes S.A., pelo apoio.

Enfim, agradeço a Deus, ou mesmo à energia vital, dos quais retirei a força de vontade para conduzir este trabalho.

Muito obrigado!

*“Tamanho é a grandeza da informação contida no DNA que, em uma mísera minhoca, existe potência computacional maior do que em um computador sofisticado”.*

*(STEPHEN HAWKING; KORYTOWSKI, 2001).*

## RESUMO

É grande a importância do resgate e preservação de espécies alimentícias subutilizadas, tais como as hortaliças não convencionais, das quais, apenas um reduzido número, apresenta comprovação científica de suas propriedades nutricionais, citogenéticas e fitotécnicas. Com isso, visando obter um conhecimento científico mais aprofundado sobre espécies representantes de hortaliças não convencionais no Brasil, foram realizados três diferentes estudos. No primeiro estudo realizou-se a caracterização dos constituintes nutricionais presentes nas espécies almeirão de árvore (*Lactuca canadensis* L.), azedinha (*Rumex acetosa* L.), bertalha (*Basella alba* L.), capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), caruru de mancha (*Amaranthus viridis* L.), caruru vermelho (*Amaranthus hybridus* L.), coentro do mato (*Eryngium campestre* L.), peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium* L.). Todas as espécies estudadas mostraram possuir atividade antioxidante, e níveis variados de compostos nutricionais de interesse, tais como compostos fenólicos, vitamina C, pectina, carotenóides, antocianinas monoméricas, valor calórico, composição centesimal, acidez, fibras e o teor de nitrato, sendo este último, um composto considerado antinutricional. O segundo estudo visou realizar a contagem dos cromossomos, e a quantificação do DNA nuclear por citometria de fluxo, de espécies consideradas hortaliças não convencionais no Brasil. Neste estudo, azedinha (*Rumex acetosa* L.) apresentou 14 cromossomos e 7,04 pg de DNA nuclear; *Basella alba* L. apresentou 44 cromossomos e 7,05 pg de DNA nuclear; *Tropaeolum majus* L. apresentou 28 cromossomos e 2,08 pg de DNA nuclear; *Stachys byzantina* K. Koch apresentou 30 cromossomos e 1,54 pg de DNA nuclear e *Hibiscus sabdariffa* L. apresentou 72 cromossomos e 5,12 pg de DNA nuclear. O terceiro estudo visou avaliar o comportamento dos parâmetros produtivos da azedinha (*Rumex acetosa* L.) e do peixinho (*Stachys byzantina* K.), submetidos a diferentes níveis de adubação e densidades de plantio, bem como caracterizar os estádios fenológicos dessas espécies. *Rumex acetosa*, sob solo com boa disponibilidade de P e K, foi mais produtiva (75 Mg.ha<sup>-1</sup>) quando conduzida em espaçamento mais adensado (30x35 cm), e quando associada à adubação de 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 60 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 100 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. *Stachys byzantina*, sob solo com baixa disponibilidade de P e K, foi mais produtiva (48,05 Mg.ha<sup>-1</sup>) quando conduzida em espaçamento menos adensado (50x30 cm), sob a adubação de 300 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 240 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 800 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Os ciclos das culturas, do plantio à colheita, foram estabelecidos em 100 e 140 dias para as culturas da azedinha e do peixinho, respectivamente.

Palavras-chave: Citogenética. Composição nutricional. Genoma. Hortaliças tradicionais. Indicativos de cultivo.

## ABSTRACT

There is a great importance in preservation of edible vegetables underutilized species, of which only a small number presents scientific evidences. Thus, to obtain further scientific knowledge about unconventional vegetables in Brazil, three different studies were performed. The first study was carried to characterize the nutritional constituents present in tree chicory (*Lactuca canadensis* L.), sorrel (*Rumex acetosa* L.), basella (*Basella alba* L.), nasturtium (*Tropaeolum majus* L.), spot pigweed (*Amaranthus viridis* L.), red pigweed (*Amaranthus hybridus* L.), wild Coriander (*Eryngium campestre* L.), lamb's ear (*Stachys byzantina* K. Koch) and cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L.). All species showed to have antioxidant activity and varying levels of nutritional compounds of interest, such as phenolic compounds, vitamin C, pectin, carotenoids, anthocyanins monomeric, calorific value, acidity, fibers and nitrate content. The second study aimed count the chromosomes and quantify nuclear DNA by flow cytometry of unconventional vegetables in Brazil. In this study, the genome from *Rumex acetosa* L. was represented by 14 chromosomes and 7.04 pg of nuclear DNA; *Basella alba* L. was represented by 44 chromosomes and 7.05 pg of nuclear DNA; *Tropaeolum majus* L. represented by 28 chromosomes and 2.08 pg of nuclear DNA; *Stachys byzantina* K. Koch represented by 30 chromosomes and 1.54 pg of nuclear DNA and *Hibiscus sabdariffa* L. was represented by 72 chromosomes and its genome was quantified at 5.12 pg. The third study aimed to evaluate the productive parameters of sorrel (*Rumex acetosa* L.) and Lamb's ear (*Stachys byzantina* K.) submitted to different concentrations of fertilization and different levels of planting densities, as well characterize the vegetative growth stages of these species through different experiments carry out. Sorrel in soil with good availability of P and K, was more productive (75 Mg ha<sup>-1</sup>) when conducted in more dense spacing (30x35 cm), under fertilization of 150 kg ha<sup>-1</sup> N, 60 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O and 100 kg ha<sup>-1</sup> of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. *Stachys byzantine*, in soil with low availability of P and K, was more productive (48.05 Mg.ha<sup>-1</sup>) when conducted in less dense spacing (50x30 cm) under the fertilization of 300 kg ha<sup>-1</sup> N, 240 kg ha<sup>-1</sup> of K<sub>2</sub>O and 800 kg .ha<sup>-1</sup> of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. The growth stages of crops, from planting to harvest, were established in 100 and 140 days after planting for sorrel and Lamb's ear respectively.

Keywords: Cytogenetic. Genome. Indigenous crops. Nutritional compounds. Management growing.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

Figura 1a	<i>Amaranthus viridis</i> L. ....	19
Figura 1b	<i>Amaranthus hibrydus</i> .....	19
Figura 2	<i>Basella alba</i> L. ....	20
Figura 3	<i>Lactuca canadensis</i> L. ....	21
Figura 4	<i>Eryngium campestre</i> L. ....	22
Figura 5	Folhas e botões florais de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. ....	23
Figura 6	<i>Rumex acetosa</i> L. ....	24
Figura 7	<i>Stachys byzantina</i> K. Koch.....	25
Figura 8	Folhas e flores <i>Tropaeolum majus</i> L.....	26
Figura 9	<i>Xanthosoma sagittifolium</i> L. ....	27
Figura 10	Mapa de localização das Coleções <i>in vivo</i> de Hortaliças Não Convencionais da Universidade Federal de Lavras, tidas como fonte de matéria-prima para os estudos realizados neste trabalho..	31

### CAPÍTULO 2

Figura 1	Dendograma contendo os grupos de similares em espécies de hortaliças não convencionais.....	64
----------	---	----

### CAPÍTULO 3

Figura 1	Metáfases e os gráficos de picos de reflectância do DNA nuclear das espécies: A) <i>Rumex acetosa</i> L., (2n= 14), B) <i>Basella alba</i> L. (2n=44) e C) <i>Tropaeolum majus</i> L. (2n=28). As setas em A) <i>Rumex acetosa</i> L., indicam os cromossomos sexuais das plantas contendo os grupos de similares em espécies de hortaliças não convencionais. ....	95
----------	---	----

Figura 2 Metáfases e os gráficos de picos de reflectância do DNA nuclear das espécies; A) *Stachys byzantina* K. Koch ( $2n= 30$ ) e B) *Hibiscus sabdariffa* L. ( $2n=72$ ). .....96

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

- Tabela 1 Estruturas vegetais das diferentes espécies e variedades morfogênicas avaliadas. ....54
- Tabela 2 Resultados médios e teste de Scott Knott para atividade antioxidante, fenólicos, vitamina C, pectina total, carotenoides, antocianinas e nitrato, obtidos para as estruturas das espécies avaliadas. ....59
- Tabela 3 Resultados médios e teste de Scott Knott para valor calórico, carboidratos, umidade, lipídeos, proteínas, fibra bruta, minerais e acidez, obtidos para as estruturas das espécies avaliadas. ....61

### CAPÍTULO 3

- Tabela 1 Resultados dos dados de citometria de fluxo e de quantificação de DNA nuclear das Hortaliças Não Convencionais estudadas e do padrão (*Pisum sativum* L.) utilizado.....94

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO..... 16</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO..... 18</b>
<b>2.1</b>	<b>Hortalças não convencionais no Brasil ..... 18</b>
<b>2.2</b>	<b>Germoplasma: preservação e uso..... 27</b>
<b>2.3</b>	<b>Potencial nutricional das hortaliças não convencionais ..... 32</b>
<b>2.4</b>	<b>Quantidade de DNA nuclear e número cromossômico de hortaliças não convencionais ..... 35</b>
<b>2.5</b>	<b>Manejo fitotécnico e hortaliças não convencionais ..... 37</b>
	<b>REFERÊNCIAS..... 39</b>
<b>CAPÍTULO 2 Caracterização nutricional de hortaliças não convencionais ..... 48</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO..... 51</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS ..... 54</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS ..... 58</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÕES..... 65</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES..... 74</b>
	<b>REFERÊNCIAS ..... 75</b>
<b>CAPÍTULO 3 Número cromossômico e conteúdo de DNA de hortaliças não convencionais ..... 83</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO..... 85</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS ..... 88</b>
<b>2.1</b>	<b>Material vegetal..... 88</b>
<b>2.2</b>	<b>Observação e contagem cromossômica ..... 88</b>
<b>2.3</b>	<b>Quantificação do DNA..... 91</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 94</b>

<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	102
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	103
	<b>CAPÍTULO 4</b> <b>Nutrição mineral, densidade de plantio e caracterização biométrica e fenológica da azedinha e do peixinho.</b>	108
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	110
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	114
<b>2.1</b>	<b>Experimentos 1 e 2: propagação do material vegetal e avaliação dos estádios fenológicos</b> .....	114
<b>2.2</b>	<b>Avaliação da influência de diferentes espaçamentos e adubações na produtividade e em caracteres biométricos das culturas (experimentos 3 e 4)</b> .....	117
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	120
<b>3.1</b>	<b>Estádios fenológicos da cultura da azedinha (<i>Rumex acetosa</i> L.)</b> ....	120
<b>3.2</b>	<b>Estádios fenológicos da cultura do peixinho (<i>Stachys byzantina</i> K. Koch)</b> .....	121
<b>3.3</b>	<b>Influência de diferentes espaçamentos e adubações na produção e nos caracteres biométricos da azedinha (<i>Rumex Acetosa</i> L.)</b> .....	123
<b>3.4</b>	<b>Influência de diferentes espaçamentos e adubações na produção e nos caracteres biométricos de <i>Stachys byzantina</i> K. Koch</b> .....	125
<b>4</b>	<b>DISCUSSÕES</b> .....	127
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	131
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	131
	<b>APÊNDICE</b> .....	136

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é caracterizado por apresentar imensa biodiversidade de solos, clima, fauna e flora, vasta disponibilidade de área agricultável e consideráveis reservas naturais. É grande a variedade de espécies vegetais passíveis de serem cultivadas no país, para as diversas finalidades.

No passar dos séculos, com o advento das inovações tecnológicas no setor agrícola somado com outros diversos fatores, algumas espécies cultivadas se destacaram sobre outras, e começaram a ter maior escala de produção comercial, o que muitas vezes suprimiu a prática do cultivo de algumas outras espécies menos comuns, as quais foram perdendo o seu valor comercial, se tornando menos difundidas e com menor disponibilidade de material para cultivo, como sementes, maquinário, manejo técnico apropriado, entre outros (CARDOSO, 1997; BRASIL, 2002; 2010a; 2013; KINUPP; LORENZI, 2014).

As hortaliças não convencionais são exemplos de algumas dessas espécies que eram bastante utilizadas na culinária, entretanto, passaram a ser cultivadas de forma mais restrita, em um sistema de agricultura considerado familiar, regional, geralmente com baixo conhecimento técnico-científico aplicado. Dessa forma, essas espécies não convencionais são pouco difundidas no mercado, geralmente exploradas apenas para fins familiares ou domésticos, e conduzidas normalmente sob um cultivo restrito a algumas localidades ou regiões, principalmente em consequência da cultura alimentar difundida entre gerações, perdendo, portanto, sua importância como alimento, na maioria das vezes, por falta de oferta no mercado (BRASIL, 2013).

Por questões de biossegurança e para que se evitem possíveis extinções e perdas das informações genéticas de cada espécie, é fundamental o resgate e a preservação de espécies alimentícias que se tornaram subutilizadas, tais como as hortaliças não convencionais. Nos vegetais, a perda dessas informações

fitogenéticas é conhecida como erosão genética e é atribuída a diversos fatores, tais como a explosão populacional, a crescente industrialização, os fenômenos naturais, o uso de monoculturas e o uso inadequado dos centros de variabilidade genética (SANTOS; BETTENCOURT, 2001).

Muito é dito nas instituições de pesquisa, na mídia em geral, nas agendas políticas e mesmo nas conversas corriqueiras sobre a megabiodiversidade brasileira, no entanto, pouco é feito com objetivos práticos de valorização e uso real desta riqueza biológica. No que diz respeito à diversidade florística (fitodiversidade) com potencial alimentício, por exemplo, muito pouco é conhecido.

Além de indicativos etnológicos sobre os usos das hortaliças não convencionais como alimento, pouco se conhece sobre elas, principalmente sobre seus aspectos citogenéticos, nutricionais e fitotécnicos. É primordial que haja pesquisas com essas espécies, focando em estudos genéticos, para fins de melhoramento, estudos nutricionais para indicação do potencial alimentar, bem como estudos fitotécnicos com finalidade de se elucidar o manejo agrônomo mais indicado, visando aumentar a produtividade em plantios comerciais.

Com isso, o objetivo do presente trabalho, foi realizar estudos nutricionais, citogenéticos e fitotécnicos, de espécies de hortaliças consideradas não convencionais no Brasil.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Hortaliças não convencionais no Brasil

A cultura alimentar que compõe o cardápio atual da alimentação do brasileiro é fundamentada em uma mistura de diferentes hábitos. Parte desses hábitos originou-se no início da colonização do país, com a inserção de grande quantidade de espécies provenientes de diferentes regiões geográficas, as quais foram introduzidas pelos colonizadores e escravos de diversas nações, que aqui se estabeleceram. Muitas espécies se adaptaram bem, e então, começaram a ser cultivadas em maiores escalas agrícolas. A outra grande parte dos hábitos alimentares foi herdada da cultura de povos indígenas que aqui já habitavam, antes da colonização, os quais comumente cultivavam espécies alimentares de hortaliças e frutas nativas (CASCUDO, 2011).

Fizeram e/ou fazem parte da nossa cultura, espécies como almeirão-de-árvore (*Lactuca canadensis* L.), azedinha (*Rumex acetosa* L.), bortalha (*Basella alba* L.), capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), caruru (*Amaranthus* spp.); coentro selvagem (*Eryngium campestre* L.), peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch), taioba (*Xanthosoma sagittifolium* L.), vinagreira verde (*Hibiscus sabdariffa* L.), dentre outras, algumas nativas e outras introduzidas por colonizadores europeus ou por escravos africanos (CARDOSO, 1997; BRASIL, 2002; 2010a; 2010b; 2013; KINUPP; LORENZI, 2014).

Em consequência de diferentes fatores, essas espécies tornaram-se subutilizadas, e de certa forma, esquecidas pela população. Muitas dessas hortaliças estão sendo recentemente resgatadas e depositadas em coleções de germoplasma por diferentes órgãos e, comumente, utilizadas na culinária tradicional, em culturas regionalizadas (BRASIL, 2013). Imagens e

características gerais destes gêneros e espécies, bem como alguns de seus potenciais alimentícios, são apresentados a seguir:

- *Amaranthus* spp.: o gênero compreende diferentes espécies da família das Amaranáceas, conhecidas popularmente como amarantos ou caruru. Tem seu principal centro de origem a América Tropical (CARVALHO; CHRISTOFFOLETI, 2007). Existe cerca de 10 espécies desse gênero amplamente distribuídas no território agrícola brasileiro, e estas, por serem rústicas e agressivas, muitas vezes são consideradas como invasoras (KISSMANN; GROTH, 1999; CARVALHO; CHRISTOFFOLETI, 2007). Em algumas regiões, suas folhas e hastes são comumente utilizadas na alimentação humana ou animal (KINUPP; LORENZI, 2014).



Figura 1a *Amaranthus viridis* L.  
Figura 1b *Amaranthus hibrydus*  
Fonte Arquivo pessoal

- *Basella alba* L.: hortaliça folhosa da família das Baseláceas, perene, com hábito de trepadeira, conhecida popularmente como bertalha, cultivada de forma restrita em algumas localidades do Brasil (BRASIL, 2013), tendo suas folhas e caules suculentos, utilizados em culinárias locais da mesma forma que o espinafre. Tem seu centro de dispersão e origem, a Índia e o sudeste Asiático, e foi introduzida no Brasil, provavelmente pelos africanos (KINUPP; LORENZI, 2014).



Figura 2 *Basella alba* L.

Fonte Arquivo pessoal

- *Lactuca canadensis* L.: hortaliça folhosa da família Asteraceae, nativa da América do Norte. No Brasil, é popularmente conhecida como almeirão de árvore, almeirão do mato ou alface selvagem. Possui ampla distribuição em forma de diversas variedades locais, onde suas folhas são utilizadas na culinária *in natura* ou em refogados. A espécie é bastante encontrada em feiras locais no Brasil, como por exemplo, na região serrana do Rio de

Janeiro. As plantas são muito resistentes, e normalmente produzem muitas sementes nas regiões tropicais (KINUPP; LORENZI, 2014).



Figura 3 *Lactuca canadensis* L.  
Fonte Arquivo pessoal

- *Eryngium campestre* L.: hortaliça folhosa, da família das Apiáceas, conhecida popularmente como coentão, chicória do mato ou coentro de espinho. É nativa da região do mediterrâneo, e atualmente é cultivada e utilizada nas regiões sul e sudeste do Brasil. Sua propagação é facilmente realizada por sementes e por propagação vegetativa (KINUPP; LORENZI, 2014). Suas plantas são herbáceas, utilizadas normalmente como condimento, por possuir aroma e sabor pungente característico (BRASIL, 2013).



Figura 4 *Eryngium campestre* L.  
Fonte Arquivo pessoal

- *Hibiscus sabdariffa* L.: arbusto ereto, anual, ramificado, da família das Malváceas, conhecido popularmente como vinagreira, hibisco ou groselheira, e tem como centro de origem, a África (KINUPP; LORENZI, 2014). Suas flores são perfeitas e autógamas, formadas ao longo da haste da planta (LORENZI; SOUZA, 1999). Das diferentes espécies do gênero, esta é utilizada na alimentação em forma do consumo de suas folhas *in natura* ou dos botões florais, dessecados para a produção de chás ou infusões (BRASIL, 2013).



Figura 5 Folhas e em detalhe os botões florais de *Hibiscus sabdariffa* L.  
Fonte Arquivo pessoal

- *Rumex acetosa* L.: planta herbácea, perene, pertencente à família Polygonaceae, conhecida popularmente como azedinha ou alface selvagem (BRASIL, 2010a). Por ser rústica e agressiva, muitas vezes é considerada planta invasora. Suas folhas podem ser utilizadas *in natura*, refogados ou *drinks* e sucos. Seu centro de origem ainda é incerto e existem relatos de sua utilização na culinária em diferentes países (KINUPP; LORENZI, 2014).



Figura 6 *Rumex acetosa* L.  
Fonte Arquivo pessoal

- *Stachys byzantina* K. Koch: planta herbácea, perene, da família Lamiaceae, encontrada espontaneamente em regiões de clima ameno da Europa e Ásia, em forma de touceiras. No Brasil é conhecido como peixinho ou orelha de lebre, e suas folhas são consumidas frescas, empanadas, fritas ou em forma líquida em infusão. Dificilmente floresce em condições brasileiras, e por isso, sua multiplicação é geralmente realizada por propagação vegetativa de suas touceiras (BRASIL, 2010a).



Figura 7 *Stachys byzantina* K. Koch  
Fonte Arquivo pessoal

- *Tropaeolum majus* L.: planta herbácea de hábito rasteiro. Hortaliça conhecida popularmente como capuchinha, e tem como centro de diversidade as Américas Central e do Sul (BRASIL, 2010a). Suas plantas apresentam todas as suas partes (caule, folhas, flores e sementes) passíveis de serem utilizadas na alimentação (KINUPP; LORENZI, 2014).



Figura 8 Folhas e flores *Tropaeolum majus* L.  
Fonte Arquivo pessoal

- *Xanthosoma sagittifolium* L.: conhecida popularmente como taioba, suas plantas são perenes, da família Aráceae, tendo como centros de diversidade o Brasil (Brasil, 2010a) e a África (LU et al., 2005). Como hortaliça, utiliza-se suas folhas e rizomas, *in natura* ou refogados (BRASIL, 2013).



Figura 9 *Xanthosoma sagittifolium* L.  
Fonte Arquivo pessoal

Recentemente, tem havido uma preocupação de órgãos governamentais pelo resgate dessas espécies de hortaliças não convencionais, no sentido de reintroduzi-las na alimentação, por serem teoricamente mais ricas em termos nutricionais do que as atualmente consumidas, e visando também o resgate da cultura brasileira (BRASIL, 2002; 2010a; b; 2013).

## **2.2 Germoplasma:** preservação e uso

Banco de germoplasma se refere a uma estrutura que serve para a coleta, caracterização, multiplicação e armazenamento de espécies de interesse. Germoplasma se refere à informação genética capaz de promover o crescimento,

estabelecimento e desenvolvimento da espécie em questão, representando o genoma de cada espécie. Uma amostra de germoplasma que representa uma população é denominada de acesso (BARBIERI, 2004), e o conjunto desses acessos é denominado coleção.

A conservação do germoplasma pode ser *in situ* (áreas de preservação ambiental) ou *ex situ* que pode ser realizada em coleção de base (processos de conserva em longo prazo, com temperaturas entre -18°C e -20°C), coleção ativa (conserva em médio prazo, com temperaturas entre de 0°C e 15°C), coleção de trabalho (amostras com que o pesquisador está trabalhando), coleção *in vivo* (em campo ou vasos), coleção *in vitro* (cultura de tecidos), criopreservação (*in vitro* em nitrogênio líquido) e coleção genômica (*in vitro* em forma de fragmentos de DNA clonados) (NASS, 2001). Estima-se que existam mais de seis milhões de acessos de germoplasmas animais e vegetais conservados em uma média de 1300 bancos no mundo (LOPES; MELLO, 2005).

De acordo com Ferreira et al. (2005), a conservação e o uso sustentável da biodiversidade, são fundamentais para a manutenção e a sobrevivência humana na terra. Dessa forma, no Brasil, cada vez mais, tem se preocupado com a preservação das hortaliças não convencionais, e com isso, diversas instituições instalaram coleções de germoplasma em diferentes localidades responsáveis pela conservação e armazenamento dessas espécies (CARDOSO, 1997; BRASIL, 2002; 2010a; b; 2013; KINUPP; LORENZI, 2014).

Vale ressaltar, que muitas das espécies tidas hoje como principais cultivos agrícolas no Brasil, são exemplos de culturas estrangeiras antigamente introduzidas no país, tais como o trigo, o arroz, a cana-de-açúcar, a canola, a soja, os citros e as diversas espécies de hortaliças tidas atualmente como convencionais. O tráfego de espécies entre diferentes regiões foi um dos fatores mais importantes para a evolução da agricultura (BORÉM; MIRANDA, 2009). Apesar de não ser muito utilizado para espécies já comumente melhoradas, o

método de introdução, e posteriores seleções do germoplasma vegetal, pode ser visto como o passo inicial para o desenvolvimento e obtenção de novas cultivares de espécies exóticas, em determinadas regiões. Os bancos de germoplasma apresentam como principal serventia, o serviço de disponibilização da matéria-prima e de material propagativo de espécies de interesse, principalmente em forma de sementes armazenadas em condições controladas.

A simples introdução e avaliação de espécies em outros ambientes configuram-se como um método inicial de melhoramento genético, hoje mais conhecido como pré-melhoramento genético. A partir da introdução do germoplasma por meio de sementes, partes vegetativas, grãos de pólen, células e DNA, é permitido ao melhorista fazer o uso indireto do material ou selecionar linhagens iniciais, atingindo-se com isso, resultados similares ao de um extenso programa de melhoramento genético, muitas vezes em menores escalas de tempo. Há grande potencial a ser explorado em espécies de hortaliças ditas não convencionais, que são pouco estudadas, e muitas das quais foram introduzidas no Brasil sem que se tivesse algum conhecimento científico sobre suas origens, sobre suas características genéticas, sobre seus diferentes potenciais alimentares e sobre as técnicas indicadas para cada cultivo.

Devido ao aumento da preocupação com a conservação dos recursos fitogenéticos e com a erosão genética no Brasil, ou seja, com a perda da variabilidade genética e extinção de espécies, em 1974, foi criado pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) o CENARGEN (Centro Nacional de Recursos Genéticos), o qual mantém vivo o objetivo de resgatar, caracterizar, conservar, preservar e fazer o intercâmbio, a documentação e a pesquisa de germoplasma, de espécies animais e vegetais com importância econômica, social e ambiental no país (EMBRAPA/CENARGEN, 2014). Além da EMBRAPA, no Brasil têm-se diversas instituições trabalhando

com a conservação e a manutenção da biodiversidade por meio de bancos de germoplasma, tal como universidades federais e estaduais, institutos estaduais de pesquisa e desenvolvimento, e empresas estaduais (FERREIRA et al., 2005; SUDRÉ et al., 2007), como a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), e o Instituto Federal do Sul de Minas (IFSULDEMINAS).

Em nível internacional, existem inúmeras instituições visando a conservação do germoplasma de hortaliças, sendo que as principais são o IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) e o AVRDC (Asian Vegetable Research and Development Center), vigentes em Roma e em Taiwan respectivamente (MAGGIONI, 2002; AVRDC, 2014).

No ano de 2013, foram instaladas no campus da Universidade Federal de Lavras, sul de Minas Gerais, coleções *in vivo* e de trabalho, de cerca de 40 espécies representantes de hortaliças não convencionais do Brasil (SILVA et al., 2014). As coleções estão situadas no setor de Olericultura da UFLA, latitude 21°14'S, longitude 45°00'W e altitude de 918 metros (Figura 8). As espécies cultivadas contemplam diferentes famílias botânicas, hábitos de crescimento e ciclos de vida, bem como potencial uso alimentar.

Os trabalhos em campo são contínuos, e as sementes das mais variadas espécies estão armazenadas em câmara fria, em condições controladas de temperatura e umidade. A instalação destas coleções fez parte do trabalho inicial desta tese, e serviram como fonte de matéria-prima para todos os estudos realizados neste trabalho, bem como para outros estudos em andamento realizados por outros pesquisadores e estudantes.

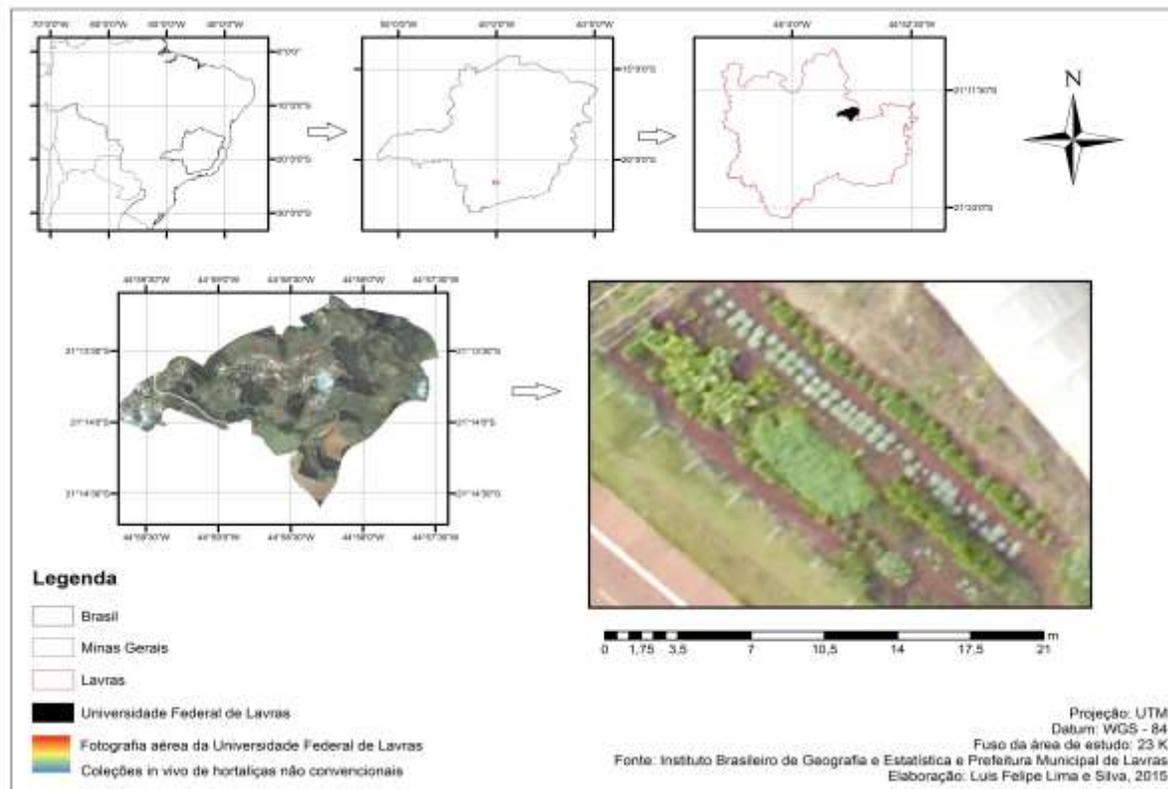


Figura 9 Mapa de localização das Coleções in vivo de Hortaliças Não Convencionais da Universidade Federal de Lavras, tidas como fonte de matéria- prima para os estudos realizados neste trabalho.

### **2.3 Potencial nutricional das hortaliças não convencionais**

As hortaliças e frutas são sabidamente ricas em vitaminas e minerais (MENDEZ, 2003; GIUNTINI et al., 2006; LIMA, 2011). Especialmente quando se trata de hortaliças e frutas silvestres, geralmente os teores de nutrientes e minerais são significativamente maiores do que em plantas domesticadas (BOOTH et al., 1992; GUERRERO et al., 1998; SUNDRIYAL; SUNDRIYAL, 2004; FLYMAN; AFOLAYAN, 2006; LETERNE et al., 2006; ODHAV et al., 2007).

Além dos minerais, em geral, frutas e hortaliças são ricas em fibras e compostos com funções antioxidantes (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 2005; ODHAV et al., 2007), e muitas são fontes de proteínas superiores às fontes vegetais convencionais (KINUPP; LORENZI, 2014).

A identificação dos compostos do metabolismo secundário das hortaliças não convencionais vem sendo objeto de muitos estudos, estimulando assim, a busca por outras variedades de hortaliças que possuam compostos com ação biológica. Essas espécies não convencionais podem ser muitas vezes, uma opção para alimentação saborosa e muito saudável.

É fundamental obter-se o conhecimento da constituição nutricional das plantas e suas respectivas propriedades e funções, direcionando assim, a utilização desses produtos, confirmando ou não sua indicação pelo conhecimento popular. Muitas hortaliças não convencionais são utilizadas no tratamento de distúrbios gastrointestinais e como tratamento preventivo de algumas enfermidades, sendo que várias apresentam na sua composição, compostos com ação antioxidante (SUNDRIYAL; SUNDRIYAL, 2004). A utilização dessas hortaliças ainda é feita de forma empírica, de modo que se faz necessária uma abordagem de seus compostos químicos-bromatológicos,

verificando assim, as propriedades nutricionais benéficas para o organismo, assim como propriedades antinutricionais presentes em cada espécie, que podem gerar toxicidade, por meio do consumo inconsequente.

Embora muitas hortaliças não convencionais sejam pouco estudadas em relação aos seus constituintes nutricionais, algumas dessas espécies se apresentam como potenciais fontes de compostos nutricionais de interesse, de acordo com alguns relatos disponíveis na literatura. Algumas espécies do gênero *Amaranthus* L. apresentam em sua constituição importantes propriedades nutricionais, como por exemplo, proteínas digestíveis (BRASIL, 2002; COSTA et al., 2008), e também macro e micronutrientes (SOUZA et al., 1999). Existem relatos do potencial nutritivo da espécie *Basella alba* L. por apresentar taxas variadas de minerais, carotenos, vitaminas, macro e micronutrientes gerais (BRASIL, 2002; BATISTA et al. 2006; OLIVEIRA et al., 2013). Em *Eryngium campestre* L., há indícios da presença de glicosídeos cianogênicos e monoterpênicos, compostos essenciais nas fases de crescimento e desenvolvimento dos organismos, entretanto, a espécie é carente de informações de seus demais constituintes (KINUPP; LORENZI, 2014). Além de sabor peculiar, *Hibiscus sabdariffa* L. apresenta potencial nutricional, por ser rico em vitaminas e nutrientes essenciais (BRASIL, 2013), entretanto, há carência de informações sobre seus demais constituintes nutricionais. A espécie *Lactuca canadensis* L. apresenta diferentes lactonas sesquiterpênicas em sua composição, e alguns desses compostos são passíveis de serem isolados e extraídos. Muitos desses compostos são conhecidos por apresentarem capacidade anti-inflamatória, melhorando o sistema circulatório e ajudando a prevenir algumas doenças quando ingeridos (MICHALSKA et al., 2013), entretanto, há poucas informações sobre seus demais constituintes nutricionais. A literatura demonstra potencial nutricional e farmacológico de *Rumex acetosa* L. a partir de minerais, antioxidantes, vitaminas, fibras, nutrientes e proteínas presentes na planta

(LADEJI; OKOYE, 1993; BRASIL, 2010a; SILVA et al., 2013). Recentemente, se tem dado atenção especial a esta espécie, principalmente por possuir resveratrol, um poderoso antioxidante, passível de ser extraído, purificado e utilizado para produção de compostos nutracêuticos (fármacos ou alimentos) com atividade anti-inflamatória, antiviral, cardioprotetora, neuroprotetora e atividade protetora do organismo em geral, reduzindo o risco de infecções, diabetes tipo 1 e 2, reduzindo a obesidade e prevenindo o envelhecimento (SOUTO, 2011). Existe grande interesse farmacológico em espécies do gênero *Stachys*, especialmente por muitas das espécies que o compõe, representarem fonte biológica de várias classes de substâncias responsáveis por amplo espectro farmacêutico. Na literatura, existem relatos do potencial nutricional de *Stachys byzantina*, principalmente por apresentar em sua constituição, elevados teores de vitamina C, vitamina K, carboidratos e potencial antioxidante (KARTSEV et al., 1994; ASNAASHARI et al., 2010). Recentemente, mais foco científico se tem dado a esta espécie, pois, em estudo, Kapewongolo (2013), demonstrou que *Stachys byzantina* apresentou ação antiviral contra HIV, e Duarte et al. (2013) demonstraram ação antibiótica de óleos essenciais desta espécie contra cândida (*Candida spp.*). *Tropaeolum majus* L. apresenta grande potencial nutricional por apresentar em sua composição vitaminas, sais minerais, carboidratos, antioxidantes, nutrientes essenciais em geral, óleos essenciais, além de potencial uso farmacológico, por apresentar um grande espectro de compostos bioativos (CARLSON; KLEIMAN, 1993; NIIZU; RODRIGUEZ-AMAYA, 2005; EMBRAPA, 2006; MORAES et al., 2008; GARZÓN; WROLSTAD, 2009; MLCEK; ROP, 2011). O potencial nutricional de *Xanthosoma sagittifolium* L. está acerca de componentes como carboidratos, proteínas, ferro, sais minerais, vitaminas e nutrientes essenciais, em geral, presentes em sua constituição (LU, et al., 2005; RODRÍGUES et al., 2006; BRASIL, 2010a; NDABIKUNZE et al., 2011).

Apesar dos indícios da presença de alguns compostos de interesse na constituição dessas espécies, grande parte dos caracteres nutricionais dessas hortaliças ainda é desconhecida, e um reduzido número dessas espécies apresenta comprovação científica de suas propriedades, sugerindo que os teores nutricionais desses produtos, precisam ser mais bem pesquisados e divulgados.

#### **2.4 Quantidade de DNA nuclear e número cromossômico de hortaliças não convencionais**

Pouco se encontra na literatura sobre as similaridades e diferenças genéticas apresentadas sobre cada espécie de hortaliça não convencional. A citogenética inclui o estudo de cromossomos nos aspectos funcionais, estruturais e numéricos, com o uso de diferentes metodologias (GUERRA; SOUZA, 2002; LOUREIRO, 2007; GUERRA, 2009).

As informações citogenéticas retratam o comportamento, a evolução física e molecular dos cromossomos de um gênero ou espécie, e, tais conhecimentos têm sido utilizados principalmente em estudos de evolução sistemática de plantas silvestres e cultivadas, e como informações fundamentais a um programa de melhoramento genético de espécies, cujo conhecimento científico de suas constituições genéticas é incipiente, tal como ocorre com as variedades de hortaliças não convencionais cultivadas no Brasil.

Mesmo com o advento da genética molecular, a análise cromossômica continua sendo a única maneira de observar todo o genoma de um eucarioto, na forma de blocos individualizados de material genético passível de serem mensurados, diferenciados em subunidades e manipulados de diversas maneiras (GUERRA; SOUZA, 2002).

A técnica da citometria de fluxo determina o conteúdo de DNA nuclear de plantas, obtido de núcleos em suspensão, a partir de algumas gramas de

tecido foliar. Esta técnica foi considerada por Palomino et al. (2005), como sendo rápida e precisa para mensurar níveis de ploidia, o tamanho do genoma, caracterizar híbridos somáticos e analisar o ciclo celular, que é de grande utilidade em diversas áreas da biotecnologia vegetal. Entretanto, mesmo que a citometria de fluxo seja capaz de detectar variações intraespecíficas no conteúdo de DNA de uma espécie, quando, por exemplo, a variação for proveniente de duplicação ou perda de segmento do cromossomo, essa metodologia não permite identificar qual dos cromossomos apresenta tal variação. Para tanto, outras metodologias se fazem necessárias. A citogenética clássica, por meio da observação direta dos cromossomos, permite caracterizar o cariótipo e identificar irregularidades nos cromossomos quanto a alterações numéricas e estruturais (GUERRA; SOUZA, 2002; GUERRA, 2008). As informações obtidas via citometria de fluxo, podem assim, serem ratificadas, pelas contagens cromossômicas. Por esse motivo, ambos os procedimentos são usados de forma complementar.

As técnicas citogenéticas de observação cromossômica e para quantificação do DNA nuclear, foram desenvolvidas, inicialmente, para animais e humanos, e posteriormente, foram adaptadas para a aplicação em células vegetais, permitindo análise do conteúdo de DNA, cariotipagem de fluxo, avaliação da atividade mitótica, dimensão do acúmulo de metabólitos secundários e seleção de cromossomos ou organelas de interesse (LOUREIRO, 2007; SOUZA et al., 2014).

Grande parte das espécies ditas hortaliças não convencionais no Brasil, são de origem desconhecida, e estas, geralmente, são propagadas sem que se tenha um controle de padrão de qualidade das variedades que são cultivadas tradicionalmente por populações locais ou de regiões e culturas específicas no país (BRASIL, 2013). Conhecimentos como quantidade de DNA nuclear e do número cromossômico característicos de cada espécie, são fundamentais e

considerados os passos iniciais de qualquer programa de melhoramento genético, principalmente para espécies que, como as hortaliças não convencionais, apresentam grande variabilidade genética e seus mecanismos evolutivos são pouco estudados.

Na literatura há relatos da caracterização citogenética de algumas dessas espécies não convencionais em nível internacional (NAGL, 1976; GRASSO; MORPURGO, 1997; BŁOCKA-WANDAS et al., 2007; GUERRA, 2009; MARTIN et al., 2011), entretanto, não há nenhum relato em nível nacional das diferentes variedades dessas espécies cultivadas no Brasil. Dos poucos trabalhos que existem em nível internacional, alguns dizem respeito a variações intraespecíficas no número de cromossomos. Em algumas espécies, tal como *Stachys byzantina* K. Koch e *Hibiscus sabdariffa* L., não existem relatos de outros trabalhos que quantificassem seus níveis de DNA nuclear.

Embora o conteúdo de DNA nuclear de uma espécie seja constante, podem ocorrer algumas exceções, devido às variações ocorridas no genoma da espécie. Em muitos casos, a variação intraespecífica se dá por aneuploidias, o que acarreta a presença de cromossomos supranumerários por perdas ou duplicações de seus segmentos. Isso pode ter grande efeito no conteúdo de DNA do genoma de uma espécie (SOUZA et al., 2014)

Torna-se fundamental, realizar investigações citogenéticas mais aprofundadas sobre as hortaliças não convencionais cultivadas no Brasil.

## **2.5 Manejo fitotécnico e hortaliças não convencionais**

Para garantir a qualidade e produtividade de uma cultura, o conhecimento fitotécnico deve estar disponível ao agricultor, principalmente relacionado com o manejo apropriado para cada cultura, tais como as operações de semeadura, adubação e correção da acidez do solo, irrigação, densidade de

plantio, estádios fenológicos, controle de pragas e doenças, e todos os demais tratamentos culturais, para melhor condução da cultura, gerando maiores produtividades. Por isso, estudos fitotécnicos são de suma importância para se obter o conhecimento básico e fundamental para a realização de qualquer cultivo agrícola, e também para que se obtenha os melhores resultados de produtividade e qualidade dos produtos gerados (FILGUEIRA, 2006; BORÉM; MIRANDA, 2009).

Entretanto, os indicativos agronômicos de cultivo, somente se tornam passíveis de serem avaliados, quando os principais caracteres botânicos de cada espécie já estiverem bem definidos, tais como estádios fenológicos, ponto de maturidade fisiológica e biologia floral e reprodutiva. Também é de grande valia obter a caracterização biométrica das espécies vegetais, por meio da qual, pode-se obter índices que servirão para o planejamento da produção de uma cultura agrícola (FLUMIGNAN et al., 2008; MORAES et al., 2013).

Apesar do aumento do incentivo governamental em cima do resgate e do uso das hortaliças não convencionais na alimentação nacional, existem poucas informações disponíveis no que se refere às técnicas indicadas para o cultivo e para a produção de cada uma delas. Tampouco, existe disponível cultivares e materiais propagativos adaptados para o plantio nas condições edafoclimáticas brasileiras, bem como é incipiente a caracterização fenológica das poucas variedades dessas espécies cultivadas no país. Normalmente, estas espécies são conduzidas tomando-se como indicações de produção, as já definidas para as culturas de hortaliças folhosas convencionais, tal como os níveis de adubação indicados para a cultura da alface (BRASIL, 2013). Pouco se encontra na literatura, sobre os indicativos dos corretos tratamentos culturais para uma boa condução do cultivo dessas espécies. É clara a demanda de estudos fitotécnicos visando elucidar os manejos agronômicos mais apropriados para o cultivo de cada espécie de hortaliça não convencional.

## REFERÊNCIAS

- ASNAASHARI, S., DELAZARI, A., ALIPOUR1, S. S., NAHAR, L., WILLIAMS, A.S., PASDARAN, A., MOJARAB, M., AZAD, F.F., SARKER, S.D. Chemical Composition, Free-Radical-Scavenging and Insecticidal Activities of The Aerial Parts of *Stachys Byzantina*. **Archives of Biological Sciences**, Belgrade, v. 62, n. 3, p. 653-662 , 2010.
- AVRDC. **Asian Vegetable Research and Development Center**. 2014. Disponível em: <<http://www.avrdc.org/>>. Acesso em: 09 jan. 2014.
- BARBIERI, R.L. Conservação e uso de recursos genéticos vegetais. In: FREITAS, L.B., BERED, F. (Ed.). **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: UFRGS, 2004. cap. 22. p.403-413.
- BATISTA, M.A., PINHEIRO-SANT'ANA, H.M., CHAVES, J.B.P., MORAES, F.A. Carotenes and provitamin A in basella and aromatic herbs marketed in Viçosa, Minas Gerais State, during the four seasons of the year. *Acta Scientiarum. Health Science*, Maringá, v. 28, n. 1, p. 93-100, 2006.
- BLOCKA-WANDAS, M.; SLIWINSKA, E.; GRABOWSKA-JOACHIMIAK, A.; MUSIAL, K.; JOACHIMIAK, A.J. Male gametophyte development and two different DNA classes of pollen grains in *Rumex acetosa* L., a plant with an XX/XY1Y2 sex chromosome system and a female-biased sex ratio. **Sexual Plant Reproduction**, v. 20, n. 4, p. 171-180, 2007. ISSN 0934-0882.
- BOOTH, S.; BRESSANI, R.; JOHNS, T. Nutrient content of selected indigenous leafy vegetables consumed by the Kekchi people of Alta Verapaz, Guatemala. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 5, n. 1, p. 25-34, 1992.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. **Melhoramento de Plantas**. 5ed. Viçosa: Editora UFV, 2009. 529 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Alimentos regionais brasileiros**. Brasília, 2002. 141 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Hortaliças não convencionais (Tradicionalis)**. Brasília, 2010a. 54 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de hortaliças não convencionais**. Brasília: MAPA, 2010b. 92 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de hortaliças não convencionais**. Brasília: MAPA/ACS, 2013. 99 p.

CARDOSO, M.O. **Hortaliças não-convencionais da Amazônia**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Serviço de Produção de Informação, 1997. ISBN 8585007672.

CARLSON, K.D.; KLEIMAN, R. Chemical survey and erucic acid content of commercial varieties of nasturtium, *Tropaeolum majus* L. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 1145-1148, 1993.

CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Leaf Area Estimation of Five Amaranthus Species Using Leaf Blade Linear Dimensions. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 25, n. 2, p. 317-324, 2007.

CASCUDO, L.D.C. História da alimentação no Brasil. **História da alimentação no Brasil**. São Paulo: Global Editora, 2011.

COSTA, D.M.A., MELO, H.N.S., FERREIRA, S.R., DANTAS, J.A. Conteúdo de N, P, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> no amaranto (*Amaranthus* spp.) sob estresse salino e

cobertura morta. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 209-216, abr./jun., 2008.

DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L.G.; DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 305-311, 2005. ISSN 0378-874

EMBRAPA/CENARGEN. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, DF: CENARGEN, 2014. Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br/>>. Acesso em: 10 jan. 2014.

EMBRAPA. Transferência de Tecnologia Pantanal – Semi-Árido. **Capuchinha**. Corumbá, MS, nov./2006. (Série Plantas Medicinais, Condimentares e Aromáticas) Disponível em: <<http://www.campinas.snt.embrapa.br/plantasMedicinais/capuchinha2.pdf>>. Acesso em: 05/ ago. 2014.

FERREIRA, M.; WETZEL, M.; VALOIS, A. **El estado del arte de los recursos genéticos en las Américas**: conservación, caracterización y utilización. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnología e Programa Cooperativo de Investigación y Transferencia de Tecnología para los Trópicos Suramericanos (PROCITROPICOS), Brasília, 100 p.[Links], 2005.

FILGUEIRA, F.A R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Universidade Federal de Viçosa: Empresa Júnior de Agronomia, 2006.

FLUMIGNAN, D.L.; ADAMI, M.; DE FARIA, R.T. Área foliar de folhas íntegras e danificadas de cafeeiro determinada por dimensões foliares e imagem digital. **Coffee Science**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2008.

FLYMAN, M.V.; AFOLAYAN, A.J. The suitability of wild vegetables for alleviating human dietary deficiencies. **South African Journal of Botany**, v. 72, p. 492-497, 2006.

GARZÓN, G.A.; WROLSTAD, R.E. Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus* L.). **Food Chemistry**, v. 114, p. 44-49, 2009.

GIUNTINI, E.B.; LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W D. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos TBCA-USP (Versões 3 e 4) no contexto internacional. **Arch. latinoam. nutr**, v. 56, n. 4, p. 366-374, 2006. ISSN 0004-0622.

GRASSO, G.; MORPURGO, R. DNA ANALYSIS IN THREE POPULATIONS XA9744550 OF AFRICAN SPINACH (*Basella* spp.). **Improvement of basic food crops in Africa through plant breeding, including the use of induced mutations**, p. 39, 1997.

GUERRA, M.; SOUZA, M.D. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. ISSN 1424-859X.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and genome research**, v. 120, n. 3-4, p. 339-350, 2008.

GUERRA, N.A. de Estudios citogenéticos de *Hibiscus sabdariffa* L.(Malvaceae). **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 9, n. 3, p. 595-598, 2009. ISSN 1317-9152.

GUERRERO, J.L.G. et al. Mineral nutrient composition of edible wild plants. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 11, n. 4, p. 322-328, 1998.

HAWKING, S.W.; KORYTOWSKI, I. **O universo numa casca de noz**. Mandarin, 2001. ISBN 8535402314.

KAPEWANGOLO, Taatsu Petrina. **Lamiaceae plant extracts and isolated compounds demonstrate activity against HIV/AIDS**. 2013. Tese. (Doutorado) - University of Pretoria, Pretoria, 2013.

KARTSEV, V.G., STEPANICHENKO, N.N., AUELBEKOV, S.A. Chemical Composition and Pharmacological Properties of Plants of The Genus *Stachys*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 30, n. 6, 1994.

KINUPP, V.F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil**: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 768 p.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF, 1999. v.2. 978 p.

LADEJI, O.; OKOYE, Z.S.C. Chemical analysis of sorrel leaf (*Rumex acetosa*). **Food Chemistry**, v. 48, p. 205-206, 1993.

LETERME, P.; BULDGEN, A.; ESTRADA, F.; LONDOÑO, A.M. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain Forest of Colombia. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 644-652, 2006.

LIMA, D.M. **Tabela brasileira de composição de alimentos-TACO**. NEPA-UNICAMP, 2011. 164 p.

LOPES, M.A.; MELLO, S.D. **Estratégias para melhoria, manutenção e dinamização do uso dos bancos de germoplasma relevantes para a agricultura brasileira**. Disponível em <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/1.7.19.pdf>. Acesso em 10 abr. 2014.

LORENZI, H., SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 2.ed. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1999. 716 p.

LOUREIRO, J.C.M. **Aplicação da citometria de fluxo ao estudo do genoma vegetal**. 2007. Disponível em: <<http://ria.ua.pt/bitstream/10773/931/1/2008000486.pdf>>. Acesso em: 09 jul. 2015.

LU, T. J.; CHEN, J. C.; LIN, C. L.; CHANG, Y. H. Properties of starches from cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L.) tubers planted in different seasons. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 69-77, 2005.

MAGGIONI, L. **Conservation and use of vegetable genetic resources: a European perspective**. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS: ADVANCES IN VEGETABLE BREEDING 637, 16., 2002, **Proceedings...** p.13-30. 2002.

MARTIN, E.; ÇETIN, Ö.; AKCICEK, E.; DIRMENCI, T. New chromosome counts of genus *Stachys* (Lamiaceae) from Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v. 35, n. 6, p. 671-680, 2011. ISSN 1303-6106.

MENDEZ, M.H. E.A. **Tabela de composição de alimentos**. Niterói, 2003. 41 p.

MICHALSKA, K.; SZNELER, E.; KISIEL, W. Sesquiterpene lactones from *Lactuca canadensis* and their chemotaxonomic significance. **Phytochemistry**, v. 90, p. 90-94, 2013. ISSN 0031-9422.

MLCEK, J.; ROP, O. Fresh edible flowers of ornamental plants - A new source of nutraceutical foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 10, p. 561-569, 2011.

MORAES, A. A., VIEIRA, M.C., ZARATE, N.A.H., TEIXEIRA, I.R., RODRIGUES, E.T. Yield of nasturtium in monocrop and intercropped with green and purple cabbage under two arrangements of plants. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1195-1202, jul./ago, 2008.

MORAES, L. de; SANTOS, R.K.; ZEIZER, T.W.; KRUPK, R.A. Avaliação da área foliar a partir de medidas lineares simples de cinco espécies vegetais sob diferentes condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 4, 2013.

NAGL, W. Early embryogenesis in *Tropaeolum majus* L.: Evolution of DNA content and polyteny in the suspensor. **Plant Science Letters**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 1976. ISSN 0304-4211.

NASS, L. **Recursos genéticos e melhoramento-Plantas**. Fundação MT, 2001. 1183 p. ISBN 8588473011.

NDABIKUNZE, B.K., TALWANA, H.A.L., MONGI, R.J., ISSA-ZACHARIA, A., SEREM, A.K., PALAPALA, V., NANDI, J.O.M. Proximate and mineral composition of cocoyam (*Colocasia esculenta* L. and *Xanthosoma sagittifolium* L.) grown along the Lake Victoria Basin in Tanzania and Uganda. **African Journal of Food Science**, v. 5, n. 4, p. 248 - 254, April, 2011.

NIIZU, P.Y., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flowers and Leaves of *Tropaeolum majus* L. as Rich Sources of Lutein. **Journal Of Food Science**, v. 70, n. 9, 2005.

ODHAV, B.; BEEKRUM, S.; AKULA, U.; BAIJNATH, H. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 5, p. 430-435, 2007. ISSN 0889-1575.

OLIVEIRA, D.C.S.; WOBETO C.; ZANUZO, MR; SEVERGNINI, C. 2013. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. **Horticultura Brasileira**, 31, p. 472-475.

PALOMINO, G.; MARTÍNEZ, J.; MÉNDEZ, I. Citotipos en *Agave angustifolia* Haw. determinados por citometría de flujo y análisis de sus cariotipos. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 21, p. 49-54, 2005. (Suplemento 1).

RODRÍGUEZ, L., LOPEZ, D.J., PRESTON, T.R., PETERS, K. 2006. New Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) leaves as partial replacement for soybean meal in sugar cane juice diets for growing pigs. **Livestock RESEARCH FOR RURAL DEVELOPMENT**. v.18, Article #91. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd18/7/rodr18091.htm>>. Acesso em: 08 ago. 2014.

SANTOS, E.; BETTENCOURT, E. **Manual de apoio à formação e treino em Conservação ex situ de Recursos Fitogenéticos**. Instituto Nacional de Investigação Agrária (INIA), Lisboa, Portugal e Instituto Internacional para os Recursos Fitogenéticos (IPGRI-SSA), Nairobi, Quênia, 2001.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; FERESIN, G.; TAPIA, A.; HILGERT, N.; THEODULOZ, C. Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 8, p. 1357-1364, 2005. ISSN 1097-0010.

SILVA, L.F.L., PRESTES, A.C.S., SOUZA, D.C., CARVALHO, M.S.S., RESENDE, L.V. **Estabelecimento de um Banco de Germoplasma de Hortaliças Tradicionais e Análise de Oxalato de Cálcio Nas Espécies**. Disponível em: <[http://www.apg.ufla.br/resumos/resumo\\_2014/resumos/resumo\\_20\\_626\\_2.pdf](http://www.apg.ufla.br/resumos/resumo_2014/resumos/resumo_20_626_2.pdf)>. Acesso em: 08 jul. 2015.

SILVA, S.R. **Aspectos Teóricos da Propagação de Plantas**. Disponível em: <<http://www.lpv.esalq.usp.br/lpv0448/Aspectos%20teoricos%20da%20propagacao%20de%20plantas.pdf>>. Acesso em: 23 nov. 2013.

SOUTO, A.A. **Process of obtainment of trans-resveratrol and/or emodin and nutraceutical compositions containing them**: Google Patents, 2011.

SOUZA, CHIES, T.T. de; BURCHARDT, P.; ALVES, E.M.S.; ESSI, L.; DOS SANTOS, E.K. O estudo da biodiversidade e evolução vegetal através de marcadores de DNA e citogenética: exemplos em Iridaceae e Poaceae. **Ciência e Natura**, v. 36, n. 3, p. 279-293, 2014. ISSN 2179-460X.

SOUZA, L.S., VELINI, E.D., MAIMONI-RODELLA, R.C.S., MARTINS, D. Contents of macronutrients and micronutrients and CN relation of several weed species. **Planta Daninha**, v.17, n.1, 1999.

SUDRÉ, C.P.; LEONARDECZ, E.; RODRIGUES, R.; DO AMARAL JÚNIOR, A. .; MOURA, M.D.C.; GONÇALVES, L.S. Recursos genéticos de hortaliças: as atividades nas coleções brasileiras de germoplasma retratadas nas publicações da Associação Brasileira de Horticultura. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 496-503, 2007.

SUNDRIYAL, M.; SUNDRIYAL, R.C. Wild edible plants of the Sikkim Himalaya: Nutritive values of selected species. **Economic Botany**, v. 58, n. 2, p. 286-299, 2004.

## CAPÍTULO 2

### Caracterização nutricional de hortaliças não convencionais

#### RESUMO

Hortaliças não convencionais são espécies vegetais que já foram bastante utilizadas na alimentação humana, entretanto, tornaram-se subutilizadas por diversos fatores. Estudos comprovando as propriedades alimentícias destas espécies ainda são incipientes. Visando obter um conhecimento mais aprofundado sobre os potenciais nutricionais, o objetivo do trabalho foi realizar a caracterização dos compostos nutricionais de interesse, presentes em hortaliças conhecidas como não convencionais, no Brasil. As seguintes avaliações foram realizadas: atividade antioxidante, compostos fenólicos totais, vitamina C, pectina total, carotenoides totais, antocianinas monoméricas, valor calórico, composição centesimal, acidez, fibras e nitrato. As espécies avaliadas foram almeirão de árvore (*Lactuca canadensis* L.), azedinha (*Rumex acetosa* L.), bertalha (*Basella alba* L.), capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), caruru de mancha (*Amaranthus viridis* L.), caruru vermelho (*Amaranthus hybridus* L.), coentro do mato (*Eryngium campestre* L.), peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium* L.). De cada espécie foram coletadas amostras representativas das estruturas vegetais, sabidamente passíveis de serem utilizadas na alimentação humana, tais como folhas, flores e botões florais. Todas as espécies estudadas apresentaram níveis variados de compostos nutricionais de interesse. As espécies *T. majus*, *A. hybridus* e *S. byzantina* se apresentaram como um grupo isolado contendo os mais elevados teores para grande parte dos compostos analisados. Todas as espécies apresentaram vitamina C em diferentes teores, entre as estruturas analisadas. *T. majus*, *A. hybridus* e *S. byzantina* foram as que apresentaram maior atividade antioxidante. Nas flores e folhas de *T. majus* foram observados os teores de 93,58% e de 68,32% de capacidade de sequestro de radicais livres (SRL), respectivamente, enquanto que nas folhas das espécies *A. hybridus* e *S. byzantina* foram observados os teores de 58,92% e de 46,51% de SRL, respectivamente. Nas folhas das espécies *T. majus*, *A. hybridus* e *S. byzantina* foram também observados os maiores teores médios para compostos fenólicos entre as estruturas das espécies analisadas (167,84, 115,03 e 209,4 mg.100g<sup>-1</sup>, respectivamente). Entre as espécies avaliadas, as folhas de *A. viridis* e *A. hybridus* se destacaram por apresentarem maiores teores de proteínas, 5,79% e de 4,42%, respectivamente, e também os maiores teores de minerais, 6,79% e de 4,64%, respectivamente, enquanto que a espécie *H. sabdariffa* se destacou por apresentar teores de pectina (1,45 g.100g<sup>-1</sup>), de carotenoides (221,59 mg.100g<sup>-1</sup>) e de antocianina (954,62 mg.l<sup>-1</sup>) em seus botões

florais. Houve grande variação na composição nutricional entre as estruturas, espécies e variedades analisadas, cada qual indicando os possíveis usos para as diferentes finalidades apresentadas pela indústria e culinária.

Palavras-chave: Compostos bioativos. Hortaliças tradicionais. Nutrição.

## Nutritional characteristics of unconventional vegetables

### ABSTRACT

Unconventional vegetables are edible plants currently underutilized by several factors; studies about the nutritional properties of some of these species are still incipient. To obtain a deeper knowledge about the nutritional potential, the aim was characterize the nutritional compounds of interest present in vegetables considered unconventional in Brazil. The following evaluations were performed on all plant samples: antioxidant activity, phenolic compounds, vitamin C, total pectin, carotenoids, anthocyanins monomeric, calorific value, chemical composition, acidity, fiber and nitrate. The studied species were tree chicory (*Lactuca canadensis* L.), sorrel (*Rumex acetosa* L.), basella (*Basella alba* L.), nasturtium (*Tropaeolum majus* L.), spot pigweed (*Amaranthus viridis* L.), red pigweed (*Amaranthus hybridus* L.), wild coriander (*Eryngium campestre* L.), Lamb's ear (*Stachys byzantina* K. Koch) and cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L.). Representative samples of each specie structures used for human consumption, such as leaves, flowers and flower buds were collected. The species showed varying levels of nutritional compounds of interest. The species *T. majus*, *A. hybridus* and *S. byzantina* were presented as an isolated group containing the highest levels for most of the analyzed compounds. All species showed vitamin C at different levels, among the analyzed structures. *T. majus*, *A. hybridus* and *S. byzantina* showed the highest antioxidant activity. In flowers and leaves of *T. majus* were observed 93.58% and 68.32% of antioxidant activity respectively, while in leaves of *A. hybridus* and *S. byzantina* were observed 58.92% and 46.51% of antioxidant activity respectively. In the leaves of *T. majus*, *A. hybridus* and *S. byzantina* were also observed the highest levels for phenolic compounds (167.84, 115.03 and 209.4 mg.100g<sup>-1</sup> respectively). Among the species studied, the leaves of *A. viridis* and *A. hybridus* presented the majors levels of protein, 5.79% and 4.42% respectively, and the largest mineral contents too, 6.79% and 4.64% respectively; while the specie *H. sabdariffa* stood out for have levels of pectin (1.45g. 100g<sup>-1</sup>), carotenoids (221.59 mg.100g<sup>-1</sup>) and anthocyanin (954.62 mg.L<sup>-1</sup>) in their flower buds. There was wide variation in nutritional composition between the structures, species and varieties analyzed, indicating the possible uses for different purposes presented by industry and cuisine.

Keywords: Bioactive compounds. Traditional vegetables. Nutrition.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta uma grande biodiversidade vegetal, nativa ou introduzida, onde várias espécies apresentam potencial para uso na alimentação humana e animal. Destas espécies, algumas já foram largamente utilizadas na alimentação, pela população, tais como as hortaliças mencionadas como tradicionais ou não convencionais. Esta nomenclatura se deve ao fato de que o consumo destas hortaliças está restrito apenas a populações tradicionais, como indígenas ou quilombolas, e também a uma pequena parcela da população rural (BRASIL, 2013; KINUPP; LORENZI, 2014). A principal razão se deve a entrada das chamadas hortaliças modernas melhoradas geneticamente, e de certa forma, mais atrativas, principalmente por já estarem muito bem inseridas no mercado nacional e internacional de produção de sementes.

Dessa forma, essas espécies pouco difundidas no mercado geralmente são exploradas em agricultura de subsistência, e normalmente cultivadas de forma restrita a algumas localidades ou regiões, principalmente em consequência da cultura alimentar difundida entre gerações, perdendo, portanto, sua importância econômica, na maioria das vezes, por falta de oferta no mercado de materiais propagativos e da informação técnica básica para seus cultivos.

Muitas dessas espécies vegetais estão sendo recentemente resgatadas e depositadas em coleções de germoplasma, por diferentes órgãos, e comumente utilizadas na culinária tradicional em culturas regionalizadas (SUDRÉ et al., 2007; BRASIL, 2010, 2013), a exemplo do almeirão-de-árvore (*Lactuca canadensis* L.), azedinha (*Rumex acetosa* L.), bertalha (*Basella alba* L.), capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), caruru (*Amaranthus* spp.), coentro selvagem (*Eryngium campestre* L.), peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch), taioba (*Xanthosoma sagittifolium* L.), vinagreira verde (*Hibiscus sabdariffa* L.), dentre

outras, algumas nativas e outras introduzidas por colonizadores europeus ou por escravos africanos (BRASIL, 2013).

Na literatura, existem relatos do potencial nutritivo de algumas dessas espécies, como por exemplo, o caruru, por apresentar cálcio, magnésio, nitrogênio, ferro e fósforo (SOUZA et al., 1999, DA COSTA et al., 2008; BRASIL, 2013); a bertalha por apresentar taxas variadas de carotenoides, vitaminas A e C (BRASIL, 2002; BATISTA et al., 2008; DA S OLIVEIRA et al., 2013); a vinagreira verde por ser rica em minerais, vitaminas A e B1 e fibras (BRASIL, 2013); a azedinha por apresentar potencial nutricional e farmacológico em sua constituição a partir de minerais, antioxidantes, vitaminas, fibras, nutrientes e proteínas (BRASIL, 2010; SILVA et al., 2013); peixinho por apresentar elevados teores de vitamina C, vitamina K, carboidratos e potencial antioxidante, além de uma grande gama de compostos bioativos apresentada por espécies do gênero *Stachys*, muito utilizado na indústria farmacológica (ASNAASHARI et al., 2010); capuchinha por apresentar em sua composição vitamina C, minerais, carboidratos, poder antioxidante, óleos essenciais, além de potencial uso farmacológico, por apresentar um grande espectro de compostos bioativos (NIIZU; RODRIGUEZ-AMAYA, 2005; EMBRAPA, 2006; GARZÓN; WROLSTAD, 2009; MLCEK; ROP, 2011); e a taioba, por apresentar significativos teores de carboidratos, proteínas, ferro, minerais e vitaminas A e C (LU et al., 2005; RODRÍGUEZ et al., 2006; BRASIL, 2010; NDABIKUNZE et al., 2011). Vale ressaltar, que os teores de fitoquímicos nas hortaliças são amplamente influenciados por diferentes fatores, tais como condições climáticas, edáficas, sistema produtivo, grau de maturação e caracteres genéticos, tais como a variedade da espécie cultivada (ALMEIDA MELO et al., 2006; COSTA et al., 2008; ARBOS et al., 2010).

O consumo destas hortaliças não convencionais poderia se apresentar como uma excelente opção na forma de fonte de compostos nutricionais,

sobretudo, para populações com menor poder aquisitivo. No entanto, estudos comprovando suas propriedades nutricionais ainda são incipientes. Sabe-se que algumas dessas espécies também podem apresentar compostos antinutricionais tais como inibidores de proteínas, oxalatos de cálcio, taninos, nitratos, entre outros (VAN VELZEN et al., 2008; JESUS BENEVIDES et al., 2011).

Visando obter um conhecimento mais aprofundado sobre os potenciais alimentícios das espécies *Amaranthus hybridus* L., *Amaranthus viridis* L., *Basella alba* L., *Eryngium campestre* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Lactuca canadensis* L., *Rumex acetosa* L., *Stachys byzantina* K. Koch, *Tropaeolum majus* L. e *Xanthosoma sagittifolium* L., o objetivo do trabalho foi realizar a caracterização dos compostos nutricionais de interesse, presentes nestas espécies consideradas hortaliças não convencionais no Brasil.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As espécies analisadas foram: *Amaranthus hybridus* L. (Caruru Vermelho), *Amaranthus viridis* L. (Caruru de Mancha), *Basella alba* L. (Bertalha), *Eryngium campestre* L. (Coentro do Mato), *Hibiscus sabdariffa* L. (vinagreira), *Lactuca canadensis* L. (Almeirão de Árvore), *Rumex acetosa* L. (Azedinha, dois tipos varietais), *Stachys byzantina* K. Koch (Peixinho), *Tropaeolum majus* L. (Capuchinha) e *Xanthosoma sagittifolium* L. (Taioba) (Tabela 1).

Tabela 1 Estruturas vegetais das diferentes espécies e variedades morfogênicas avaliadas.

<b>Espécie/Varietade</b>	<b>Estrutura vegetal</b>	<b>Nomes populares</b>
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Folhas	Caruru vermelho
<i>Amaranthus viridis</i> L.	Folhas	Caruru de mancha
<i>Basella alba</i> L.	Folhas	Bertalha
<i>Eryngium campestre</i> L.	Folhas	Coentro do mato
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Botões florais	Vinagreira verde
<i>Lactuca canadensis</i> L.	Folhas	Almeirão de árvore
<i>Rumex acetosa</i> L., var. 1	Folhas	Azedinha folhas estreitas
<i>Rumex acetosa</i> L., var. 2	Folhas	Azedinha folhas largas
<i>Stachys byzantina</i> K. Koch	Folhas	Peixinho
<i>Tropaeolum majus</i> L.	Folhas e flores	Capuchinha
<i>Xanthosoma sagittifolium</i> L.	Folhas	Taioba

As partes vegetais utilizadas para análise foram aquelas normalmente consumidas como alimento em cada espécie estudada, podendo ser folha, flor ou botão floral. As amostras foram colhidas na Coleção de Germoplasma de Hortaliças Não Convencionais, situado na horta experimental da Universidade Federal de Lavras, latitude 21°14'S, longitude 45°00'W e altitude média de 918 metros. O clima da região é classificado como temperado úmido, com verão quente e inverno seco, sendo, portanto, do tipo Cwa na classificação de Köppen. As espécies estudadas contemplaram diferentes famílias botânicas, hábitos de

crescimento e ciclo de vida, bem como potencial para uso alimentar. Compreendem variedades obtidas a partir de seleções feitas por agricultores, formas variantes das espécies cultivadas e espécies silvestres dos gêneros de interesse para a olericultura nacional.

Cerca de 20 plantas de cada espécie foram conduzidas em delineamento de blocos casualizados, de onde foi retirada cada amostra vegetal. As plantas foram conduzidas em canteiro no campo, irrigadas por gotejamento e o solo adubado com  $150 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  N,  $60 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$  e  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , tendo em vista a boa disponibilidade de P e de K no solo experimental, obtida mediante análise química prévia.

As amostras foram coletadas das partes intermediárias e desenvolvidas de cada planta, compondo assim uma amostra única de cada espécie. As amostras foliares foram coletadas em estágio completo de desenvolvimento; as amostras florais foram colhidas após a antese para a espécie *Tropaeolum majus* L., e antes da antese em forma de botões florais na espécie *Hibiscus sabdariffa* L..

As amostras foram conduzidas no Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças e Química de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil, onde foram utilizadas para as avaliações nutricionais. Em laboratório, o delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com doze tratamentos em triplicata, sendo que cada tratamento correspondeu a uma estrutura alimentícia de uma espécie (Tabela 1), em cerca de 300 gramas por repetição. As seguintes avaliações foram realizadas: atividade antioxidante, compostos fenólicos, vitamina C, pectina total, carotenoides totais, antocianinas monoméricas, valor calórico, acidez, lipídeos, proteínas, umidade, cinzas, fibras e nitrato.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes,

segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), adaptado por Rufino et al. (2007).

Para a determinação de compostos fenólicos, foram obtidos extratos, e sua quantificação foi realizada conforme o método colorimétrico desenvolvido por Singleton e Rossi (1965), com a utilização do reagente de Folin-Ciocalteu. O procedimento de extração envolveu etapas consecutivas de centrifugação, filtração e repouso, visando obter uma melhor extração dos compostos fenólicos.

A quantificação dos teores de vitamina C foi realizada por método colorimétrico, empregando-se 2,4 dinitrofenilhidrazina, segundo Strohecker e Henning (1967). A leitura foi realizada a 520 nm em espectrofotômetro Beckman 640B, com sistema computadorizado. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico. 100 g<sup>-1</sup> da hortaliça avaliada.

O teor de pectina total foi analisado no botão floral de *H. sabdariffa* por ser citado como fonte desse composto. Os extratos foram obtidos de acordo com a técnica descrita por McCready e McComb (1952), e determinadas, espectrofotometricamente, a 520 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem ou gramas de pectina em 100 gramas da hortaliça.

Os teores de carotenoides totais foram aferidos nas flores de *H. sabdariffa* e de *T. majus* por serem citadas como fontes desses compostos. Para isso foi utilizada a técnica proposta por Rodriguez-Amaya et al. (1976), e os resultados foram expressos em mg.100g<sup>-1</sup>.

A análise do conteúdo total de antocianinas foi realizada seguindo-se o método do pH diferencial, proposto por Giusti e Wrolstad (2001).

Para os valores das porções nutricionais do alimento, foi analisada a composição centesimal, de acordo com metodologia descrita pela AOAC (2007), e o valor calórico foi calculado de acordo com o sugerido por Osborne e Voogt (1978).

A acidez titulável foi calculada com a titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH)  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ , sendo os resultados expressos em porcentagem (%) do ácido predominante para cada material, de acordo com técnica da AOAC (2007).

Na determinação dos lipídeos foi utilizado o método de extração contínua em aparelho Soxhlet, utilizando-se como solvente o éter etílico (AOAC, 2007). Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem (%).

A umidade foi determinada pelo peso constante em estufa de  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ , de acordo com AOAC (2007), sendo os resultados expressos em porcentagem (%).

Para a determinação dos teores de fibras, foram utilizadas metodologias para determinar a FDN (Fibra em Detergente Neutro) e FDA (Fibra em Detergente Ácido), de acordo com Silva e Queiroz (2002). Os valores de FDN indicam a quantidade de celulose, hemicelulose e lignina, já o FDA, quantifica a celulose e a lignina, porventura presentes nas amostras avaliadas.

O teor de proteínas e de cinzas foram estimados de acordo com metodologia estipulada pelo Instituto Adolfo Lutz (1985).

Para a determinação dos teores de nitrato, o mineral foi quantificado em material previamente seco, e as análises seguiram metodologia descrita por Cataldo et al. (1975).

Para análise de normalidade e posteriormente, comparação dos resultados, foi realizada análise de variância, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011). Após a análise de variância, observou-se o nível de significância pelo teste F e foi realizado o teste de Scott Knott, a um nível de confiança de 95% para comparar as médias.

Para que fosse possível a caracterização completa e agrupamento das hortaliças levando em consideração todas as variáveis de qualidade avaliadas, foi elaborado o dendograma, de acordo com a distância euclidiana das amostras, com auxílio do programa Chemoface, versão 1.4 (NUNES et al., 2012).

### 3 RESULTADOS

A atividade antioxidante variou significativamente entre as estruturas comestíveis das espécies avaliadas, sendo que todas apresentaram capacidade de sequestro de radicais livres (SRL), variando de um mínimo de 11,57% na folha de *Rumex acetosa*<sup>1</sup> (variedade folhas estreitas), até um máximo de 93,58% na folha de *T. majus*, sendo que a flor desta última apresentou o segundo maior valor de atividade antioxidante, sendo de 68,32%.

As demais estruturas das espécies avaliadas apresentaram os seguintes resultados: *A. hybridus* 58,92% de SRL; *S. byzantina* 46,51% de SRL; *A. viridis*, *R. acetosa* variedade folhas largas e *L. canadensis* apresentaram média de 41,91% de SRL, não se diferindo estatisticamente entre si; *Basella alba* 28,62% de SRL e as espécies *X. sagittifolium*, *H. sabdariffa* e *E. campestre* apresentaram em média 20,22% de SRL, as quais não diferiram entre si para este caractere (Tabela 2).

Tabela 2 Resultados médios e teste de Scott Knott para atividade antioxidante, fenólicos, vitamina C, pectina total, carotenoides, antocianinas e nitrato, obtidos para as estruturas das espécies avaliadas.

	<b>Atividade Antioxidante</b>	<b>Fenólicos</b>	<b>Vitamina C</b>	<b>Pectina Total</b>	<b>Carotenoides Totais</b>	<b>Antocianinas monoméricas</b>	<b>Nitrato</b>
	<b>%SRL</b>	<b>mg/100g</b>	<b>mg/100g</b>	<b>g/100g</b>	<b>mg/100g</b>	<b>mg/L</b>	<b>g/100g</b>
<i>T. majus</i> (folha)	93.58 a	167.84 b	188.55 a	ND	ND	ND	0.169 a
<i>A. hybridus</i> (folha)	58.92 c	115.03 c	172.04 b	ND	ND	ND	0.186 a
<i>S. byzantina</i> (folha)	46.51 d	209.40 a	88.75 d	ND	ND	ND	0.048 d
<i>T. majus</i> (flor)	68.32 b	23.39 f	175.93 b	ND	711.84 a	ND	0.079 c
<i>X. sagittifolium</i> (folha)	21.86 g	33.41 e	195.58 a	ND	ND	ND	0.133 b
<i>A. viridis</i> (folha)	41.76 e	10.97 g	187.90 a	ND	ND	ND	0.122 b
<i>B. alba</i> (folha)	28.62 f	16.02 g	187.23 a	ND	ND	ND	0.052 d
<i>H. sabdariffa</i> (flor)	20.14 g	42.41 d	69.94 e	1.45	221.59 b	954.62	0.056 d
<i>R. acetosa</i> <sup>1</sup> (folhas)	11.57 h	8.74 g	93.85 d	ND	ND	ND	0.036 e
<i>R. acetosa</i> <sup>2</sup> (folhas)	41.98 e	16.93 g	95.73 d	ND	ND	ND	0.023 e
<i>L. canadensis</i> (folhas)	41.98 e	19.95 f	104.63 c	ND	ND	ND	0.109 b
<i>E. campestre</i> (folhas)	18.66 g	24.41 f	111.30 c	ND	ND	ND	0.031 e
<b>CV (%)</b>	3.50	8.00	5.59	-	13.95	-	11.67

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 95% de confiança.

Além de apresentarem os maiores valores de atividade antioxidante, as espécies *S. byzantina*, *A. hybridus* e *T. majus* também foram as que apresentaram em suas constituições os maiores valores para os compostos fenólicos, sendo respectivamente de 209,04 mg.100g<sup>-1</sup>, 167,84 mg.100g<sup>-1</sup> e 115,03 mg.100g<sup>-1</sup>. Os teores dos fenólicos presentes nas outras espécies e estruturas avaliadas variaram em um mínimo de 10,97 mg.100g<sup>-1</sup> na folha de *A. viridis*, até um teor máximo de 42,41 mg.100g<sup>-1</sup> no botão floral de *H. sabdariffa*.

Em geral, todas as estruturas das espécies avaliadas apresentaram em sua constituição, teores de vitamina C, variando de um mínimo de 69,94 mg.100g<sup>-1</sup> no botão floral de *H. sabdariffa*, até o máximo de 195,58 mg.100g<sup>-1</sup> nas folhas de *X. sagittifolium*, a qual não se diferiu estatisticamente das espécies *T. majus*, *A. viridis* e *Basela alba*.

O botão floral de *H. sabdariffa* apresentou pectina e antocianinas em sua constituição em valores de 1,45 g.100g<sup>-1</sup> e de 954,62 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. As estruturas florais das espécies *H. sabdariffa* de *T. majus* apresentaram carotenoides em valores de 221,59 mg.100g<sup>-1</sup> e de 711,84 mg.100g<sup>-1</sup> respectivamente.

A folha de *T. majus* apresentou maior teor de carboidratos (8,33%) e lipídeos (1,52%). Conseqüentemente, a folha desta espécie apresentou o maior teor energético, num total de 60,32 kcal.100g<sup>-1</sup>. O botão floral de *H. sabdariffa* apresentou valor calórico em um teor de 52,08 kcal.100g<sup>-1</sup>, com destaque para o maior teor de lipídeos, não se diferindo estatisticamente neste último, para o observado na folha de *T. majus*. A flor de *T. majus* e a folha de *L. canadenses* apresentaram os menores valores calóricos, em média 36 kcal/100g<sup>-1</sup> (Tabela 3).

Tabela 3 Resultados médios e teste de Scott Knott para valor calórico, carboidratos, umidade, lipídeos, proteínas, fibra bruta, minerais em cinzas e acidez, obtidos para as estruturas das espécies avaliadas.

	<b>Valor Calórico</b>	<b>Carboidratos</b>	<b>Umidade</b>	<b>Lipídeos</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Fibra Bruta</b>	<b>Minerais (cinzas)</b>	<b>Acidez</b>
	<b>kcal/100g</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
<i>T. majus</i> (folha)	60.32 a	8.33 a	76.70 c	1.52 a	3.32 c	1.92 d	2.75 d	0.72 d
<i>A. hybridus</i> (folha)	47.58 c	5.28 c	74.25 f	0.97c	4.42 b	1.81 d	6.79 a	0.31 e
<i>S. byzantina</i> (folha)	42.93 d	5.26 c	77.44 e	0.90 c	3.45 c	4.57 a	3.30 c	0.36 e
<i>T. majus</i> (flor)	36.16 e	6.37 b	89.59 a	0.45 d	1.72 d	0.54 g	0.83 h	0.41 e
<i>X. sagittifolium</i> (folha)	41.26 d	4.03 d	84.68 c	1.26 b	3.46 c	2.03 d	2.11 e	0.63 d
<i>A. viridis</i> (folha)	48.76 c	3.80 d	77.79 e	1.16 b	5.79 a	1.88 d	4.64 b	0.27 e
<i>B. alba</i> (folha)	26.30 f	4.38 d	90.95 a	0.33 d	1.44 e	0.74 g	1.31 g	0.59 d
<i>H. sabdariffa</i> (flor)	52.08 b	5.62 c	80.14 d	1.70 a	3.54 c	3.95 b	1.05 h	2.26 a
<i>R. acetosa</i> <sup>1</sup> (folha)	23.63 f	3.01 e	92.41 a	0.44 d	1.87 d	0.91 f	0.78 h	1.49 c
<i>R. acetosa</i> <sup>2</sup> (folha)	26.08 f	4.47 d	90.93 a	0.33 d	1.48 e	0.98 f	0.95 h	1.72 b
<i>L. canadensis</i> (folha)	36.62 e	6.07 b	86.80 b	0.81 c	1.25 e	1.35 e	1.71 f	0.49 d
<i>E. campestre</i> (folha)	41.20 d	6.39 b	83.97 c	0.97 c	1.11 e	2.38 c	1.97e	0.36 e
<b>CV (%)</b>	6.86	4.87	1.52	12.35	8.84	8.56	7.54	7.54

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 95% de confiança.

Todas as estruturas das espécies avaliadas apresentaram teores de umidade acima de 70% e inferiores a 93%, com maiores valores nas espécies *R. acetosa*, *B. alba* e *T. majus* (flores), não diferindo entre si, porém, dos demais.

As estruturas das espécies avaliadas apresentaram teores variados para a constituição proteica, oscilando em uma média mínima de 1,32% nas folhas de *L. canadensis*, *E. campestre* e *Rumex acetosa* variedade folhas largas, até uma média de 3,44% apresentada pelas folhas de *T. majus*, *S. byzantina*, *X. sagittifolium* e pelos botões florais de *H. sabdariffa*.

Os níveis de fibra bruta variaram significativamente entre as espécies e estruturas. Os maiores teores de fibra observados foram nas folhas de *S. byzantina* e nos botões florais de *H. sabdariffa*, em valores de 4,57% e de 3,95% respectivamente. Teores mínimos de fibra foram observados nas flores de *T. majus* e nas folhas de *B. alba* em valor médio de 0,64%, enquanto que teores intermediários foram observados para as demais estruturas das espécies avaliadas.

A folha de *A. viridis* apresentou o maior valor para minerais constituintes quando comparada com as demais espécies avaliadas, aproximadamente 6,79%, enquanto que as folhas de *A. hybridus* aproximadamente 4,64%. Para as outras espécies estudadas, os minerais variaram em uma média mínima de 0,90% para os valores apresentados pelas flores de *T. majus*, pelos botões florais de *H. sabdariffa* e pelas folhas de *R. acetosa*, até 3,30%, apresentado na constituição das folhas de *S. byzantina*. As médias foram obtidas a partir dos valores que não diferiram estatisticamente, a um nível de 5% pelo teste de *Scott Knott*.

O botão floral de *Hibiscus sabdariffa* apresentou maior teor de acidez observado, em média 2,26%. Ambas as variedades de *R. acetosa* também apresentaram elevados teores de acidez. As folhas de *R. acetosa*<sup>1</sup> apresentaram um teor de 1,49% de acidez, enquanto que as folhas de *R. acetosa*<sup>2</sup> apresentaram

um teor de 1,72% de acidez. Nas outras espécies estudadas, os níveis de acidez apresentados pelas estruturas comestíveis variaram em um mínimo de 0,34% nas folhas de *Amaranthus spp.*, *S. byzantina*, *E. campestre* e nas flores de *T. majus*, as quais não diferiram estatisticamente para este teor, até um nível intermediário de 0,61% obtido nas folhas de *T. majus*, *X. sagittifolium*, *B. alba* e *L. canadensis*, as quais não diferiram estatisticamente entre si.

Todas as estruturas das espécies avaliadas apresentaram teor de nitrato em suas constituições. As espécies *A. hybridus* e *T. majus* apresentaram em suas folhas os maiores teores deste composto, sendo de  $0,169\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  e de  $0,186\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  respectivamente, valores estes que não se diferiram estatisticamente. Para as outras estruturas avaliadas, o teor de nitrato variou de uma média mínima de  $0,03\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  para as folhas de *E. campestre* e *R. acetosa*<sup>1,2</sup>, a um teor médio de  $0,128\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  observado nas folhas de *A. viridis* e *X. sagittifolium*.

A análise dos componentes nutricionais, considerando as similaridades entre as estruturas das espécies avaliadas, propiciou a formação de dois grupos, conforme dendrograma (Figura 1). No primeiro grupo ficaram reunidas as espécies *T. majus* (folhas), *A. hybridus* e *S. byzantina*. As demais espécies compõem um segundo grande grupo por sua vez subdividido em dois subgrupos, o primeiro composto pelas espécies *T. majus* (flores), *A. viridis*, *X. sagittifolium* e *B. alba*; e o outro composto por *H. sabdariffa*, *R. acetosa*, *E. campestre* e *L. canadensis*.

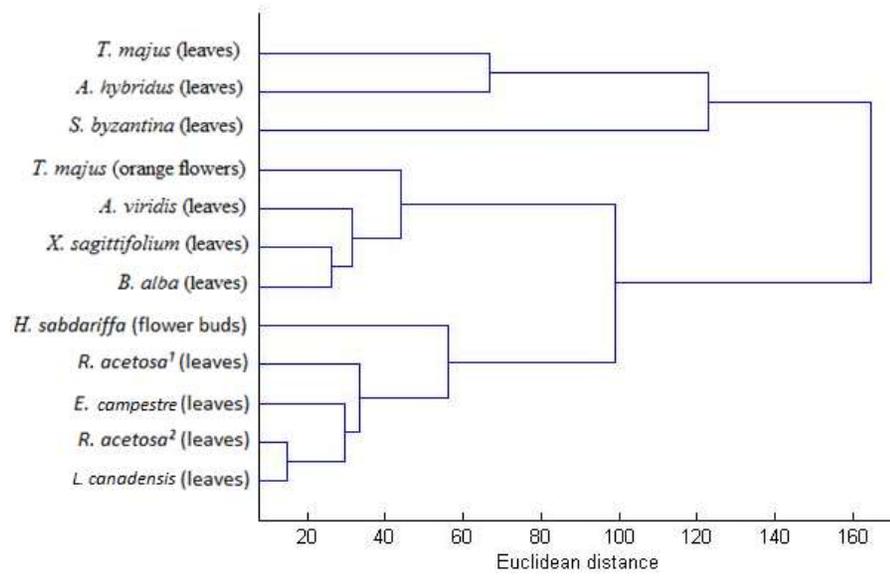


Figura 1 Dendrograma contendo os grupos de similaridades nutricionais em espécies de hortaliças não convencionais.

\**R. acetosa*<sup>1</sup> = variedade folhas estreitas; *R. acetosa*<sup>2</sup> = variedade folhas largas.

#### 4 DISCUSSÕES

Cada vez mais se tem dado importância científica à saúde alimentar. Em suas atribuições normais, o metabolismo humano produz moléculas denominadas radicais livres, os quais podem reagir com proteínas, lipídeos, DNA, RNA e outros constituintes do organismo passíveis de serem oxidados. Essas reações podem provocar danos aos tecidos e órgãos, muitas vezes relacionados com doenças degenerativas tal como câncer. Sugere-se o consumo de diferentes fontes biológicas de compostos antioxidantes, por meio do uso de produtos na alimentação que os contém em sua constituição, tal como oleaginosas, cereais, hortaliças (frutas, folhas e tuberosas), dentre outros, visando com isso, retardar o efeito oxidante e também o aparecimento de algumas doenças (MELO et al., 2006).

Todas as espécies apresentaram atividade antioxidante, com destaque para *T. majus*, que apresentou os maiores índices para o sequestro de radicais livres, sendo que em suas folhas e flores foram observados os maiores valores entre todas as estruturas das espécies avaliadas. A capacidade de sequestro de radicais livres apresentada pelas folhas de *T. majus* é superior aos elucidados por MELO et al. (2006) para algumas hortaliças folhosas comumente comercializadas no Brasil, tais como alface (65% SRL), couve-flor (87,52% SRL), couve (91,63% SRL) e espinafre (81,41% SRL).

A variedade *R. acetosa*<sup>2</sup> apresentou teor de atividade antioxidante bem superior à variedade *R. acetosa*<sup>1</sup>. As duas variedades cultivadas de *Rumex acetosa* L. também apresentaram diferentes resultados para teores de carboidratos, proteínas e acidez. Os dados confirmaram a variação genética na constituição nutricional dentro dessa espécie representada pelas duas variedades estudadas, visto que os cultivos foram conduzidos simultaneamente, e todos os tratamentos culturais adotados foram similares. Esta diferença mostra claramente que

o conteúdo nutricional pode responder de forma variada, não somente nas diferentes partes de uma mesma planta, mas como também em diferentes variedades morfogênicas de uma mesma espécie.

A atividade antioxidante nos alimentos está intimamente relacionada com a presença de componentes como fenólicos, vitamina C, carotenos e outros pigmentos, assim como a eficácia da ação antioxidante desses compostos, quando ingeridos, depende da estrutura química e da taxa de suas concentrações em cada alimento (MELO et al., 2006).

A vitamina C (ácido ascórbico) é hidrossolúvel, fundamental na síntese de colágeno, reparação dos tecidos e na manutenção do bom funcionamento de vários setores do metabolismo humano. Apresenta também participação no sistema imunológico, principalmente devido a sua propriedade antioxidante, sendo o homem incapaz de sintetizar o ácido ascórbico, e em consequência disto, necessita ingeri-lo por meio de fontes externas (LEE; KADER, 2000; FUCHS FD, 2010).

O teor médio de vitamina C observado nas espécies avaliadas se apresenta superior às médias observadas na constituição de hortaliças comumente utilizadas in natura, como salada, tal como alface, brócolis, couve, couve-flor, espinafre, repolho e rúcula, as quais, em média, apresentam 50 mg dessa vitamina por 100 g<sup>-1</sup> do vegetal (LIMA, 2011). De acordo com as recomendações da FAO/OMS (2001), adultos devem consumir diariamente uma média de 30 mg desta vitamina.

A espécie *T. majus* também se destacou entre as demais avaliadas, por apresentar em sua folha os maiores teores para vitamina C, valor calórico, carboidratos e lipídeos. Suas flores e folhas frescas são culturalmente utilizadas em culinárias regionais, principalmente em forma de saladas (BRASIL, 2013). *T. majus* também é conhecida e estudada no meio farmacológico (GASPAROTTO et al., 2009). Estes dados indicam que esta espécie apresenta

um bom potencial para ser utilizada na forma de alimento, como fonte de compostos bioativos em dietas alimentares, além de possuir outras características nutricionais importantes. Garzón e Wrolstad (2009) também sugerem a possibilidade da utilização dessa espécie como alimento funcional, fonte de compostos antioxidantes e de pigmentos naturais.

As espécies *T. majus*, *S. byzantina* e *A. hybridus* foram, portanto, as que apresentaram maiores teores de fenólicos e de vitamina C entre as estruturas analisadas, sendo essencialmente por isso, que estas espécies foram as que também apresentaram maior teor de atividade antioxidante.

Assim como *T. majus*, a espécie *S. byzantina* também é bem vista no meio farmacológico e medicinal (ASNAASHARI et al., 2010). Neste trabalho, além de apresentar níveis intermediários e muitas vezes superiores para a maioria dos compostos avaliados, *S. byzantina* também se destacou por apresentar em sua folha o maior teor de fibras entre as espécies estudadas. No organismo humano as fibras alimentares são importantes, principalmente na manutenção do bom funcionamento do sistema digestivo. O teor de fibras observado em *S. byzantina* é superior ao comumente reportado para algumas hortaliças folhosas convencionais, tais como alface crespa (1,8%), couve manteiga (3,1%) e espinafre (2,1%) (LIMA, 2011).

O gênero *Amaranthus* possui cerca de 10 espécies amplamente distribuídas no território agrícola brasileiro, e estas, por serem rústicas e agressivas, muitas vezes são consideradas como invasoras (CARVALHO; CHRISTOFFOLETI, 2007), entretanto, em algumas regiões, suas folhas e hastes são comumente utilizadas na alimentação humana ou animal (BRASIL, 2010; 2013).

As duas espécies de *Amaranthus* avaliadas neste trabalho, *A. hybridus* e *A. viridis*, se destacaram por apresentarem em suas constituições os maiores teores para os níveis de proteínas e minerais obtidos. Em se tratando de

proteínas, as folhas de *A. viridis* e as folhas de *A. hybridus* apresentaram valores superiores aos comumente presentes em algumas hortaliças folhosas normalmente comercializadas e consumidas no Brasil, tais como alface crespa (1,3%), couve (2,9%), espinafre (2,0%) e rúcula (1,8%) (LIMA, 2011). As proteínas e minerais possuem papéis estruturais e metabólicos, fundamentais para a manutenção dos organismos vivos, e a recomendação diária para a ingestão de proteínas por um adulto, é, em média, de 50 gramas. São necessários estudos mais aprofundados no que diz respeito à digestibilidade e biodisponibilidade dessas proteínas no organismo humano ou organismo animal, dependendo de cada uso e finalidade.

As folhas de *A. viridis* apresentaram o maior valor para minerais constituintes quando comparada com as demais espécies estudadas. Normalmente, a fração de minerais em cinzas é em grande parte composta por macro e micronutrientes (PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985; AOAC, 1995), estes, essenciais para a manutenção do bom funcionamento do organismo. Sugere-se estudos que realizem a qualificação e quantificação dos minerais presentes nas constituições destas espécies. As recomendações diárias para a ingestão de minerais variam em torno da demanda do organismo por cada elemento (EUR-LEX, 2006). A espécie *A. hybridus* também se destacou entre as demais avaliadas por apresentar os teores de atividade antioxidante, fenólicos, vitamina C, valor calórico, carboidratos, lipídeos, proteínas, fibras alimentares e minerais, entre os maiores elucidados.

Das diferentes espécies do gênero, *H. sabdariffa* é utilizada na alimentação em forma do consumo de suas folhas *in natura* ou dos botões florais dessecados para a produção de geleias ou chás (BRASIL, 2013). O teor de pectina observado em seu botão floral mostra-se expressivo quando comparado a outras espécies consideradas fontes desse composto, visando à fabricação de doces e geleias, tais como goiabas (*P. guajava*) da cultivar Pedro Sato, em que

Linhares et al., (2005) revelou o teor de pectina total de 0,88g/100g do fruto, e também como morangos (*Fragaria spp.*) da cultivar Sweet Charles, (FRANÇOSO et al., 2008), os quais apresentaram um valor de pectina total de 0,75g.100g<sup>-1</sup>, valores estes bastante inferiores aos 1,45g.100g<sup>-1</sup> observados na constituição do botão floral de *H. sabdariffa*. Os botões florais de *H. sabdariffa* também são utilizados em alguns locais para a produção de chás e infusões, principalmente por seu paladar ser agradável, levemente ácido e cítrico (BRASIL, 2013). Essa espécie também apresentou antocianinas e carotenoides em sua constituição.

Alguns materiais utilizados para a produção de geleias são pobres em pectina, exigindo assim, adição externa do composto, para que o doce fique em sua consistência e textura ideais. A importância da pectina se remete na tecnologia e no processamento do alimento associada à sua função de conferir firmeza, bem como ao seu papel na dispersão e estabilização de diversas emulsões (GANCZ et al., 2006), sendo que algumas espécies vegetais são utilizadas com o propósito final da exploração desse composto.

Os botões florais de *H. sabdariffa* também se destacaram por apresentarem antocianina em sua constituição. As antocianinas são responsáveis pela cor azul-arroxeadada apresentada pelos alimentos, como por exemplo, o vermelho-escuro no morango (*Fragaria Spp.*) (PINTO et al., 2012). Estes compostos participam no metabolismo energético, por meio da transformação de carboidratos e outros nutrientes em energia e também apresenta algumas propriedades antioxidantes quando ingerido, e consequentemente, efeito desintoxicante das células (ROCHA; REED, 2014), além de também ser passível a sua utilização como corante natural na indústria de alimentos (LOPES et al., 2012).

Para suprir as necessidades do metabolismo, o organismo humano deve adquirir do meio exógeno, por meio da alimentação, compostos como

carboidratos, óleos, proteínas, dentre outros, cujas funções, além de estruturais, são de suprir essa demanda energética. Das espécies avaliadas, *T. majus* foi a que apresentou maiores teores de carboidratos e lipídeos em suas folhas, e conseqüentemente, as folhas desta espécie apresentaram o maior teor energético. Os botões florais de *H. sabdariffa* apresentaram o segundo maior valor calórico, com destaque para o maior teor de lipídeos, não se diferenciando estatisticamente para este teor do observado nas folhas de *T. majus*. As flores de *T. majus* e a espécie *L. canadensis* foram as que apresentaram os menores valores calóricos. Os valores energéticos elucidados para as espécies estudadas, mesmo os menos elevados, são superiores aos descritos comumente para hortaliças utilizadas na alimentação, tais como alface crespa (11 kcal/100g), brócolos (25 kcal/100g), couve (27 kcal/100g) e repolho branco (17 kcal/100g) (LIMA, 2011).

O teor de acidez no alimento tem importância direta com a qualidade, processamento e conservação. Dados de acidez e estimativas do potencial hidrogeniônico em alimentos são importantes para a caracterização desses produtos, e também para estudos sobre a conservação pós-colheita, evitando-se a proliferação de microrganismos, mantendo-se condições ótimas para atividades enzimáticas específicas, contribuindo assim, para a manutenção da qualidade do produto final, influenciando no sabor, odor, cor, textura, dentre outros (CECCHI, 2003).

Os botões florais de *Hibiscus sabdariffa* apresentaram maior teor de acidez observado, e ambas as variedades de *R. acetosa* também apresentaram elevados teores de acidez. Na literatura há relatos da utilização dessas duas espécies *in natura*, refogados, *drinks* e sucos na culinária de populações tradicionais (BRASIL, 2010; 2013). A acidez apresentada é bem vista ao paladar considerando-se sucos e *drinks*, no caso de *R. acetosa*, e chás e infusões produzidos com os botões florais de *H. sabdariffa*.

Algumas espécies de hortaliças apresentam também, compostos antinutricionais, tais como inibidores de proteínas, oxalatos de cálcio, taninos, nitratos, dentre outros (BENEVIDES et al., 2011). No organismo humano, o nitrato em excesso pode causar metahemoglobinemia (uma forma de hemoglobina que não se liga ao oxigênio), além de ser carcinogênico e teratogênico. A concentração desse composto em hortaliças varia de acordo com as condições climáticas e o manejo agrônomico de cultivo, bem como das condições do armazenamento pós-colheita (VAN VELZEN et al., 2008).

O Brasil não possui legislação própria com relação a teores de nitrato nos alimentos, baseando-se assim, na legislação internacional. A União Europeia fixa teores máximos permitidos para o consumo humano, onde produtos que ultrapassam esses valores não podem ser comercializados. A dose diária admissível (DDA), estabelecida pelo Comitê Científico da Alimentação Humana, é de 3,65mg/Kg de peso corpóreo (EUR-LEX, 2006). A FAO/WHO estabelece uma dose aceitável de nitrato na alimentação humana diária, de 3,7 mg/Kg de massa corporal. De acordo com Van Velzen et al. (2008), cerca de 85% do nitrato absorvido em dietas provém de hortaliças, e este, é totalmente absorvido e processado pelo organismo humano muito eficientemente, cerca de 100%, independentemente se os vegetais foram cozidos ou não.

Para fins comparativos, admitindo-se a dose diária de 3,7 mg de nitrato por quilograma de massa corpórea como limite, considerando um adulto de massa de 65 kg, a dose diária admissível poderia ser, no máximo, de 135g das folhas de *Amaranthus hybridus* e *T. majus*, espécies que apresentaram maiores teores desse composto antinutricional. Para as outras estruturas avaliadas, a dose diária admissível poderia ser, no máximo, de 802g para as folhas de *E. campestre* e *R. acetosa*, e uma ingestão diária máxima de 187,90g para as folhas de *A. viridis* e *X. sagittifolium*.

Nos limites elucidados, seria seguro a introdução dessas hortaliças diariamente na alimentação de uma pessoa no que se refere aos teores de nitrato aqui obtidos, como também esses níveis considerados aceitáveis para a alimentação humana. Deve-se ressaltar que existem outros compostos considerados antinutricionais não verificados neste trabalho, tais como inibidores de proteínas, oxalatos de cálcio, taninos, dentre outros, havendo clara necessidade de estudos mais aprofundados neste setor, até que se possa considerar totalmente como segura, a utilização diária dessas espécies na alimentação humana, em corretas quantidades.

As espécies *T. majus* (folhas), *A. hybridus* e *S. byzantina* apresentaram os maiores valores para atividade antioxidante, fenólicos, vitamina C, valor calórico, carboidratos e proteínas, e por isso, se caracterizam como um grupo isolado no dendograma (Figura 1). De acordo com as similaridades nutricionais entre as espécies estudadas, outro grupo se definiu, o qual se dividiu em mais dois outros subgrupos. O primeiro subgrupo foi formado pelas flores de *T. majus* e folhas de *A. viridis*, *X. sagittifolium*, e *B. alba*, principalmente por estas espécies apresentarem em sua constituição, teores intermediários de atividade antioxidante, carboidratos, lipídeos e valores inferiores de acidez. O segundo subgrupo foi formado pelo botão floral de *H. sabdariffa* e as folhas de *R. acetosa*<sup>1,2</sup>, de *E. campestre* e de *Lactuca canadensis*, principalmente por estas espécies apresentarem em sua constituição, os menores teores de atividade antioxidante, valor calórico e minerais, e teores intermediários para a maior parte dos outros compostos avaliados.

Os resultados da composição nutricional das estruturas, espécies e variedades analisadas, indicam os possíveis usos para as diferentes finalidades apresentadas pela indústria e culinária, sugerindo a possibilidade da utilização dessas espécies como fonte de compostos antioxidantes e de pigmentos naturais em forma de alimentos e para a indústria, entretanto, para uma correta inclusão

na alimentação diária, sugere-se estudos mais aprofundados, aferindo as porções máximas recomendadas.

## 5 CONCLUSÕES

Todas as espécies estudadas possuem níveis variados de compostos nutricionais de interesse. As espécies *T. majus*, *A. hybridus* e *S. byzantina* se apresentaram como um grupo isolado contendo os mais elevados teores para grande parte dos compostos analisados, tais como atividade antioxidante, fenólicos, vitamina C, valor calórico, carboidratos e proteínas. *A. hybridus* e *A. viridis* destacaram-se por apresentarem em suas folhas os maiores teores de proteínas e minerais. *H. sabdariffa* se destacou por apresentar valor de pectina, antocianinas e carotenóides em seus botões florais.

Todas as espécies apresentaram vitamina C em diferentes teores, entre as estruturas analisadas. As folhas de *X. sagittifolium*, *T. majus*, *A. viridis* e *B. alba* apresentaram o maior teor dessa vitamina entre os materiais avaliados, bem como, se comparadas com folhosas convencionais.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA MELO, E.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L. L.; SILVA CAETANO, A.C.da; JOSEFANASCIMENTO, R. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, 2006. ISSN 0101-2061.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists.. In:\_\_\_\_\_. (Ed.). **Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 900.02)**. Arlington: A.O.A.C., 1995. cap. 44. p. 3.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. . In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Official Methods of the Association of the Agricultural Chemists**. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists, v.8, 2007.

ARBOS, K.A.; FREITAS, R.J.S.D.; STERTZ, S.C.; DORNAS, M.F. Antioxidant activity and phenolic content in organic and conventional vegetables. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010. ISSN 0101-2061.

ASNAASHARI, S.; DELAZAR, A.; ALIPOUR, S.S.; NAHAR, L.; WILLIAMS, A.S.; PASDARAN, A.; MOJARAB, M.; AZAD, F.F.; SARKER, S. Chemical composition, free-radical-scavenging and insecticidal activities of the aerial parts of *Stachys byzantina*. **Archives of Biological Sciences**, v. 62, n. 3, p. 653-662, 2010.

BATISTA, M.A.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M.; CHAVES, J.B.P.; MORAES, F.A. Carotenos e provitamina A em bertalha e ervas aromáticas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais, durante as quatro estações do ano-DOI: 10.4025/actascihealthsci.v28i1.1122. Acta Scientiarum. **Health Science**, v. 28, n. 1, p. 93-100, 2008. ISSN 1807-8648.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. ISSN 0023-6438.

BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Alimentos regionais brasileiros**. Brasília, v. 1. 2002. 141 p

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo **Hortaliças Não-Convencionais (Tradicionalis)**. Brasília, 2010. 54 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de Hortaliças Não Convencionais**. Brasília: MAPA/ACS, 2013. 99 p.

CARVALHO, S.; CHRISTOFFOLETI, P. Leaf area estimation of five *Amaranthus* species using leaf blade linear dimensions. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 317-324, 2007. ISSN 0100-8358.

CATALDO, D.; MAROON, M.; SCHRADER, L.; YOUNGS, V. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid 1. **Communications in Soil Science & Plant Analysis**, v. 6, n. 1, p. 71-80, 1975. ISSN 0010-3624.

CECCHI, H. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Unicamp, 2003.

CORADIN, L. Ministério do Meio Ambiente, Departamento de Conservação da Biodiversidade, 2008. **Fontes brasileiras de carotenóides**: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. ISBN 8577381110.

COSTA, D.M.A. da; DE SOUZA MELO, H.N.; FERREIRA, S.R.; DANTAS, J.A. Conteúdo de N, P, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> no amaranto (*Amaranthus spp*) sob estresse salino e cobertura morta. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 2, p. 209-216, 2008. ISSN 1806-6690.

EMBRAPA. Transferência de Tecnologia Pantanal – Semi-Árido/Capuchinha. **Plantas Mediciniais, Condimentares e Aromáticas**, 2006. Disponível em: <<http://www.campinas.snt.embrapa.br/plantasMediciniais/capuchinha2.pdf>>. Acesso em: 05 ago 2014.

EUR-LEX. **Access to European Union Law**. 2006. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX:32006R1881>>. Acesso em: 10 set. 2014.

FAO, W. Human Vitamin and Mineral Requirements. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok, Thailand. **Food and Nutrition Division**, FAO Rome, 2001.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. ISSN 1413-7054.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004. 307p.

FRANÇOSO, I.L.T.; COUTO, M.A.L.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Alterações físico-químicas em morangos (*Fragaria anassa* Duch.) irradiados e armazenados. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 28, p. 614-619, 2008. ISSN 0101-2061.

FUCHS FD, W.L. **Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

GANCZ, K.; ALEXANDER, M.; CORREDIG, M. In situ study of flocculation of whey protein-stabilized emulsions caused by addition of high methoxyl pectin. **Food hydrocolloids**, v. 20, n. 2, p. 293-298, 2006. ISSN 0268-005X.

GARZÓN, G.; WROLSTAD, R. Major anthocyanins and antioxidant activity of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 44-49, 2009. ISSN 0308-8146.

GASPAROTTO, A.; BOFFO, M.A.; LOURENÇO, E.L.B.; STEFANELLO, M.E.A.; KASSUYA, C.A.L.; MARQUES, M.C.A. Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 3, p. 517-522, 2009. ISSN 0378-8741.

GIUNTINI, E.B.; LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W.D. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos TBCA-USP (Versões 3 e 4) no contexto internacional. **Arch. latinoam. nutr.**, v. 56, n. 4, p. 366-374, 2006. ISSN 0004-0622.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, 2001. ISSN 0471142913.

INSKEEP, W.P.; BLOOM, P.R. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N-dimethylformamide and 80% acetone. **Plant Physiology**, v. 77, n. 2, p. 483-485, 1985. ISSN 0032-0889.

JESUS, B.C.M. de; SOUZA, M.V.; SOUZA, R.D.B.; LOPES, M.V. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011. ISSN 2316-297X.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil**: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 768p.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest biology and technology**, v. 20, n. 3, p. 207-220, 2000. ISSN 0925-5214.

LIMA, D.M. **Tabela brasileira de composição de alimentos-TACO**. NEPA-UNICAMP, 2011. 164 p.

LINHARES, L.A.; SANTOS, C.D.D.; ABREU, C.M.P.D.; CORRÊA, A.D. **Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas' Pedro Sato' tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno.** 2005. SciELO Brasil

LOPES, T.; XAVIER, M.; QUADRI, M.G.; QUADRI, M. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 13, n. 3, 2012. ISSN 2317-2436.

LU, T. J.; CHEN, J. C.; LIN, CL.; CHANG, Y. H. Properties of starches from cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) tubers planted in different seasons. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 69-77, 2005. ISSN 0308-8146.

MCREADY, P.; MCCOMB, E. Extraction and determination of total pectin materials. **Analytical Chemistry, Washington**, v. 24, n. 12, p. 1586-1590, 1952.

MELO, E.D.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.D.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 3, 2006.

MENDEZ, M.H.E.A. **Tabela de composição de alimentos.** Niterói, 2003. 41 p.

MLCEK, J.; ROP, O. Fresh edible flowers of ornamental plants—A new source of nutraceutical foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 10, p. 561-569, 2011. ISSN 0924-2244.

NDABIKUNZE, B.; TALWANA, H.; MONGI, R.; ISSA-ZACHARIA, A.; SEREM, A.; PALAPALA, V.; NANDI, J. Proximate and mineral composition of cocoyam (*Colocasia esculenta* L. and *Xanthosoma sagittifolium* L.) grown along the Lake Victoria Basin in Tanzania and Uganda. **African Journal of Food Science**, v. 5, n. 4, p. 248-254, 2011.

NIIZU, P.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flowers and leaves of *Tropaeolum majus* L. as rich sources of lutein. **Journal of food science**, v. 70, n. 9, p. S605-S609, 2005. ISSN 0924-2244.

NUNES, C.A.; FREITAS, M.P.; PINHEIRO, A.C.M.; BASTOS, S.C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012. ISSN 0103-5053.

ODHAV, B.; BEEKRUM, S.; AKULA, U.; BAIJNATH, H. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 5, p. 430-435, 2007. ISSN 0889-1575.

OLIVEIRA, D.D.C da S.; WOBETO, C.; ZANUZO, M.R.; SEVERGNINI, C. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies-olerícolas não-convencionais. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, 2013.

OSBORNE, D.; VOOGT, P. **The analysis of nutrients in foods**. Academic Press Inc.(London) Ltd., 24/28 Oval Road, London NW1 7DX., 1978. ISBN 0125291507.

PINTO, A.G.; SILVA, L.F.L.E.; CARMINATTI, R.; MORALES, R.G.F.; SARMIENTO, C.M. Análise físico-química de frutos de sete cultivares de morangueiro. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA. 21., **Anais...** Lavras, 2012.

PINTO, N.; CARVALHO, V.; CORRÊA, A. D.; RIOS, A. Avaliação de fatores antinutricionais das folhas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* Schoot). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 3, p. 601-604, 2001.

PIRES, A.M.B.; SILVA, P.S.; NARDELLI, P.M.; GOMES, J.C.; RAMOS, A. M. Caracterização e processamento de cubiu (*Solanum sessiliflorum*). **Revista Ceres**, v. 53, n. 307, p. 309, 2006. ISSN 0034-737X.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. In: (Ed.). **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo: IMESP, 1985.

ROCHA, D.S.; REED, E. Pigmentos Naturais em Alimentos e sua Importância para a Saúde. **Estudos**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 76-85, jan./mar. 2014.

RODRIGUEZ, D.B.; RAYMUNDO, L.; LEE, T.-C.; SIMPSON, K.; CHICHESTER, C. Carotenoid pigment changes in ripening Momordica charantia fruits. **Annals of Botany**, v. 40, n. 3, p. 615-624, 1976.

RODRÍGUEZ, L.; LOPEZ, D.J.; PRESTON, T.; PETERS, K. New Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) leaves as partial replacement for soybean meal in sugar cane juice diets for growing pigs. **Livestock Research for Rural Development**, v. 18, n. 7, 2006. ISSN 0305-7364.

RUFINO, M.; ALVES, R.E.; DE BRITO, E.S.; DE MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.D.G.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS<sup>o+</sup>. **Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico**, 2007.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; FERESIN, G.; TAPIA, A.; HILGERT, N.; THEODULOZ, C. Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 8, p. 1357-1364, 2005. ISSN 1097-0010.

SILVA, D.J., QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, 2002. 235 p.

SILVA, E.C. da; CARLOS, L.D.A.; ARAÚJO, A.P.; FERRAZ, L.D.C.; PEDROSA, M.W.; SILVA, L.S. Characterization of two types of azedinha in the region of Sete Lagoas, Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 328-331, 2013. ISSN 0102-0536.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965. ISSN 0002-9254.

SOUZA, L.R. de; RAMOS, A.M.; DA ROCHA, F.I.G. Avaliação de componentes bioativos em suco misto de frutas e hortaliça durante 100 dias de armazenamento. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 1s, 2011. ISSN 1981-3686.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MAIMONI-RODELLA, R.; MARTINS, D. Contents of macronutrients and micronutrients and CN relation of several weed species. **Planta Daninha**, v. 17, n. 1, p. 163-167, 1999. ISSN 0100-8358.

SOUZA, R.M. de. **Corantes naturais alimentícios e seus benefícios à saúde**. 2012. 65 p. TCC (Graduação em Farmácia) - UEZO, Rio de Janeiro, 2012.

STROECKHER, R., HENNING, H.M. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967.

SUDRÉ, C.P.; LEONARDECZ, E.; RODRIGUES, R.; DO AMARAL JÚNIOR, A.T.; MOURA, M.D.C.; GONÇALVES, L.S. Recursos genéticos de hortaliças: as atividades nas coleções brasileiras de germoplasma retratadas nas publicações da Associação Brasileira de Horticultura. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 496-503, 2007.

VAN VELZEN, A.G.; SIPS, A.J.; SCHOTHORST, R.C.; LAMBERS, A. C.; MEULENBELT, J. The oral bioavailability of nitrate from nitrate-rich vegetables in humans. **Toxicology letters**, v. 181, n. 3, p. 177-181, 2008. ISSN 0378-4274.

### CAPÍTULO 3

#### Número cromossômico e conteúdo de DNA de hortaliças não convencionais

##### RESUMO

No Brasil, tem-se incentivado o resgate de espécies de hortaliças subutilizadas e sua reintrodução na alimentação humana. Algumas dessas espécies são tidas como não convencionais, tais como a azedinha (*Rumex acetosa* L.), a bertalha (*Basella alba* L.), a capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), o peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch), a vinagreira verde (*Hibiscus sabdariffa* L.), dentre outras. Os conhecimentos sobre a taxonomia e a diversidade genética sobre as variedades dessas hortaliças não convencionais são limitados, e também, pouco se encontra sobre as similaridades e diferenças genéticas apresentadas por essas espécies. Visando o melhoramento genético, torna-se premente a caracterização citogenética de espécies, que como as hortaliças ditas não convencionais, apresentam grande variabilidade genética e têm mecanismos evolutivos pouco estudados. Com isso, o objetivo do trabalho foi realizar contagens cromossômicas e quantificação do DNA nuclear das espécies *Basella alba* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Rumex acetosa* L., *Stachys byzantina* K. Koch e *Tropaeolum majus* L.. Para a contagem cromossômica, os cromossomos metafásicos foram obtidos pela técnica de secagem à chama ou esmagamento, e corados com Giemsa a 5%. A quantificação do DNA foi realizada por meio de citometria de fluxo. O número cromossômico e o conteúdo de DNA estimados para cada espécie foram: *Rumex acetosa* L. 14 cromossomos ( $2n=14$ ) e seu cDNA de 7,04 pg; *Basella alba* L. 44 cromossomos ( $2n=44$ ) e 7,05 pg de cDNA; *Tropaeolum majus* L. 28 cromossomos ( $2n=28$ ) e cDNA quantificado em 2,08 pg; *Stachys byzantina* K. Koch 30 cromossomos ( $2n=30$ ) e cDNA de 1,54pg, e *Hibiscus sabdariffa* L. 72 cromossomos ( $2n=4x=72$ ) e cDNA de 5,12 pg.

Palavras-chave: Citogenética. Hortaliças subutilizadas. Germoplasma. Melhoramento genético vegetal.

## Chromosome number and DNA content of unconventional vegetables

### ABSTRACT

In Brazil, the rescue of underutilized vegetables and their reintroduction in human consumption has been encouraged. Some of these species are considered unconventional vegetables, such as sorrel (*Rumex acetosa* L.), basella (*Basella alba* L.), nasturtium (*Tropaeolum majus* L.), lamb's ear (*Stachys byzantina* K. Koch), roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), among others. Knowledge of the taxonomy and genetic diversity of these species are limited, as well as about the similarities and genetic differences presented. Aiming at the plant breeding, it is necessary the cytogenetic characterization in these species, mainly because they present great genetic variability and its evolutionary mechanisms are little studied. Thus, the aim was to perform the chromosome counts and the quantification of nuclear DNA of the species *Basella alba* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Rumex acetosa* L., *Stachys byzantina* K. Koch and *Tropaeolum majus* L. To perform counting of chromosomes, the metaphases were obtained by technique of drying and crushing and after stained with Giemsa 5%. The DNA quantification was performed by flow cytometry. The chromosome number and DNA content estimated for each species were: *Rumex acetosa* L. presented 14 chromosomes ( $2n = 14$ ) and its cDNA presented 7.04 pg; *Basella alba* L. presented 44 chromosomes ( $2n = 44$ ) and 7.05 pg of cDNA; *Tropaeolum majus* L. presented 28 chromosomes ( $2n = 28$ ) and cDNA quantified in 2.08 pg; *Stachys byzantina* K. Koch presented 30 chromosomes ( $2n = 30$ ) and 1.54 pg of cDNA and *Hibiscus sabdariffa* L. presented 72 chromosomes ( $2n = 4x = 72$ ) and 5.12 pg of cDNA.

Keywords: Cytogenetic. Underutilized vegetables. Germplasm. Plant breeding.

## 1 INTRODUÇÃO

Algumas espécies de hortaliças já foram bastante cultivadas e utilizadas na alimentação humana, mas por diversos fatores, o consumo dessas espécies se tornou restrito apenas a algumas populações tradicionais, por isso, elas são tidas como não convencionais ou tradicionais (BRASIL, 2010; 2013). No Brasil, tem-se como exemplos de hortaliças não convencionais a azedinha (*Rumex acetosa* L.), a bertalha (*Basella alba* L.), a capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), o peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch), a vinagreira verde (*Hibiscus sabdariffa* L.), dentre outras (BRASIL, 2013; KINUPP; LORENZI, 2014). Entretanto, apesar do incentivo governamental para o resgate e reintrodução dessas espécies na alimentação (CARDOSO, 1997; BRASIL, 2002; 2010; 2013), são escassas as informações de cunho técnico ou científico relativas ao modo que essas espécies foram introduzidas nos solos brasileiros, ou mesmo sobre as origens dos seus materiais propagativos.

Os conhecimentos sobre a taxonomia e a diversidade genética sobre as variedades de hortaliças não convencionais cultivadas no Brasil, também são limitados. Por esse motivo, essas culturas têm sido produzidas, na maioria das vezes, sem o manejo agrônômico apropriado, utilizando-se misturas de materiais propagativos, sem quaisquer padrões de qualidade. Pouco se encontra na literatura sobre as similaridades e diferenças genéticas apresentadas por essas espécies.

Visando ao melhoramento genético, torna-se premente a caracterização citogenética de espécies, que como as hortaliças ditas não convencionais, apresentam grande variabilidade genética e têm mecanismos evolutivos pouco estudados. Isso demanda estudos mais aprofundados referentes ao número e ao comportamento dos cromossomos, e ao nível de ploidia dessas espécies e de suas variedades morfogênicas.

Algumas hortaliças não convencionais apresentam estudos citogenéticos incipientes realizados em outros países. *Rumex acetosa* L. é uma espécie conhecida por apresentar um complexo mecanismo cromossômico envolvendo a determinação sexual de suas plantas, e também por apresentar diferentes níveis de ploidia (MARIOTTI et al., 2006; NAVAJAS-PÉREZ et al., 2006; BŁOCKA-WANDAS et al., 2007; CUÑADO et al., 2007). Błocka-Wandas et al. (2007), relataram que plantas femininas de variedade de azedinha cultivada na Polônia, apresentaram 7,00 pg de cDNA, enquanto que plantas masculinas apresentaram cDNA superior em cerca de 7,50 pg.

Estudos citogenéticos são também incipientes no caso da espécie *Basella alba* L. A literatura apresenta certa divergência entre os resultados do número cromossômico dessa espécie (HANSON et al., 2005), sendo que existem relatos da observação de 44, 45 e 48 cromossomos em diferentes variedades. *Basella alba* também apresenta relatos da divergência de resultados da quantificação de seu cDNA, variando de 5,17 pg a 7,17 pg (GRASSO; MORPURGO, 1997; HANSON et al., 2005).

Alguns trabalhos indicam número de 28 cromossomos no genoma de *Tropaeolum majus* L., em variedades estudadas na Rússia e China, entretanto, somente há relatos da quantificação do cDNA desta espécie em trabalho publicado por Nagl et al. (1976), os quais apresentaram quantificação de 2,66 pg de cDNA.

Baltisberger (2002) e Martin (2011) observaram 15 pares de cromossomos em variedades da espécie *Stachys byzantina* K. Koch cultivadas na Turquia, entretanto, não há indícios de trabalhos que quantificaram o cDNA desta espécie.

De Guerra (2009) e Hiron (2006) observaram um total de 72 cromossomos na espécie *Hibiscus sabdariffa* L. em variedades cultivadas na

Venezuela e em Blangadesh respectivamente, entretanto, não existe na literatura relatos da quantificação do cDNA desta espécie.

Muitos destes estudos citam dados variantes observados para o número cromossômico e de cDNA nas diferentes variedades destas espécies cultivadas. Embora haja alguns estudos citogenéticos das hortaliças não convencionais em âmbito internacional, não há estudos em âmbito nacional das diferentes dessas hortaliças, mesmo havendo alguns estudos incipientes, ainda há carências de dados citogenéticos das diferentes variedades dessas espécies. Vale também ressaltar, que mesmo que o conteúdo de cDNA de uma espécie seja em geral constante, podem ocorrer algumas exceções, devido às variações ocorridas no genoma da espécie. Em muitos casos, a variação intraespecífica se dá pela variação dos cromossomos, aneuploidias, presença de cromossomos supranumerários, perdas ou duplicações de segmentos dos cromossomos. Isso pode ter grande efeito no conteúdo de DNA do genoma de uma espécie (DE SOUZA CHIES et al., 2014).

As informações obtidas via citometria de fluxo podem ser ratificadas pelas contagens cromossômicas. Por esse motivo, a contagem cromossômica clássica e a citometria de fluxo, são procedimentos usados de forma complementar. Uma mesma espécie pode apresentar diferenças em seu DNA constituinte, em suas diferentes variedades cultivadas, e estas diferenças podem ser constatadas por técnicas de observação cromossômica e pela citometria de fluxo (VIŽINTIN et al., 2012; CHEN et al., 2013).

Com isso, visando obter dados fundamentais para o início de um programa de melhoramento genético, o objetivo do trabalho foi realizar a observação, a caracterização cromossômica em relação ao nível de ploidia e a quantificação do DNA de hortaliças não convencionais do Brasil.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material vegetal**

Foram estudadas as espécies *Basella alba* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Rumex acetosa* L., *Stachys byzantina* K. Koch e *Tropaeolum majus* L..

Os tecidos meristemáticos utilizados para a observação e para a caracterização cromossômica foram obtidos de raízes jovens, coletadas diretamente nas plantas cultivadas em campo ou no hipocótilo proveniente de sementes cultivadas em câmara de germinação, com condições controladas de temperatura e luminosidade (B.O.D. - *Biochemical Oxygen Demand*), de acordo com a disponibilidade de material propagativo de cada espécie, e também com adaptações da metodologia para observação cromossômica citada por Guerra e Souza (2002).

As amostras foliares utilizadas para a quantificação do DNA por citometria de fluxo foram colhidas na coleção de germoplasma de hortaliças não convencionais, situado na horta experimental da Universidade Federal de Lavras, latitude 21°14'S, longitude 45°00'W e altitude média de 918 metros. O clima da região é classificado como temperado úmido, com verão quente e inverno seco, sendo, portanto, do tipo Cwa na classificação de Köppen.

### **2.2 Observação e contagem cromossômica**

Para as contagens cromossômicas foram obtidos tecidos meristemáticos de pontas de raízes, os quais foram submetidos aos tratamentos químicos de bloqueio das fases celulares em divisão mitótica, testados de acordo com a resposta de cada espécie ao tempo de exposição, concentração e bloqueador.

Posteriormente, as pontas das raízes contendo os meristemas foram fixadas em *Carnoy* 3:1 (etanol absoluto/ácido acético glacial v/v), por um período de 24 horas, em temperatura ambiente, e na sequência, estocadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a fase de preparo das lâminas. Para o preparo das lâminas, os meristemas foram lavados e em seguida foram submetidos à digestão enzimática, testada de acordo com a resposta de cada espécie para a enzima, concentração e tempo de digestão, abaixo listados.

*Rumex acetosa* L.: esta espécie normalmente não floresce em condições climáticas brasileiras (BRASIL, 2013; KINUPP & LORENZI, 2014), assim não existe disponibilidade de sementes das variedades dessa espécie cultivadas no Brasil, e, por isso, a coleta dos meristemas foi realizada diretamente nas raízes de plantas mantidas em campo. Os tecidos meristemáticos foram coletados das pontas das raízes presentes em suas touceiras, por volta das 10h30min da manhã, e posteriormente, submetidos ao tratamento com o bloqueador mitótico Colchicina 0,002 M, por 5 horas, a uma temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , para depois serem fixados em *Carnoy*. Para a montagem das lâminas, os meristemas foram retirados da solução fixadora, submetidos a três lavagens com água destilada por 5 minutos, e então conduzidos à digestão enzimática com HCl 1N a  $60^{\circ}\text{C}$  por 15 min, posteriormente com a enzima pectinase e celulase (100U/200U) por 30 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$ . As lâminas foram preparadas de acordo com a técnica do esmagamento e coradas com Giemsa 5% por 7 minutos.

*Basella alba* L.: por apresentar fácil propagação sexual, desta espécie foram coletadas cerca de 40 sementes, as quais foram colocadas em câmara de germinação (B.O.D.) com temperatura de  $27^{\circ}\text{C}$  e luminosidade controlada. Nestas condições, as sementes germinaram em cerca de três dias, momento em que foi realizada a coleta dos hipocótilos com os meristemas radiculares às 10h30min da manhã. Os meristemas foram então, submetidos ao tratamento com o bloqueador mitótico 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) 0,002 M, por 24 horas, a uma

temperatura de 10°C, e posteriormente, fixados em *Carnoy*. Para a montagem das lâminas, os meristemas foram retirados da solução fixadora, lavados três vezes por 5 minutos em água destilada e submetidos à digestão enzimática com a mistura das enzimas pectinase e celulase (100U/200U) e pectoliase 5%, por 35 minutos, a uma temperatura de 37°C. As lâminas foram preparadas de acordo com a técnica de secagem à chama, e coradas com *Giemsa* 5% por 4 minutos.

*Tropaeolum majus* L.: Esta espécie se propaga facilmente por sementes e por reprodução vegetativa nas condições edafoclimáticas brasileiras (BRASIL, 2013; KINUPP & LORENZI, 2014), entretanto, devido a pouca disponibilidade de sementes, os meristemas foram coletados diretamente no campo, por volta das 10h30min da manhã, retirados das raízes jovens. Posteriormente, foram submetidos ao tratamento com o bloqueador mitótico Colchicina 0,002 M, por 5 horas, a uma temperatura de 25° C, para depois serem fixados em *Carnoy*. Para a montagem das lâminas, os meristemas foram retirados da solução fixadora, submetidos a três lavagens com água destilada, por 5 minutos, e então foram conduzidos à digestão enzimática com a mistura das enzimas pectinase e celulase (100U/200U) e pectoliase 5%, por 40 minutos a 37°C. As lâminas foram preparadas de acordo com a técnica de secagem à chama, e coradas com *Giemsa* 5% por 5 minutos.

*Stachys byzantina* K. Koch: esta espécie normalmente não floresce em condições climáticas brasileiras (BRASIL, 2013; KINUPP & LORENZI, 2014), por isso geralmente é reproduzida por propagação vegetativa, não havendo disponibilidade de sementes das variedades cultivadas no Brasil. Assim, a coleta dos meristemas foi realizada diretamente no campo por volta das 10h30min da manhã, os quais foram retirados das pontas das raízes presentes nas touceiras, e posteriormente foram submetidos ao tratamento com o bloqueador mitótico Colchicina 0,002 M, por 5 horas, a uma temperatura cerca de 25° C, para depois serem fixados em *Carnoy*. Para a montagem das lâminas, os meristemas foram

retirados da solução fixadora, submetidos a três lavagens com água destilada por, 5 minutos, e então conduzidos à digestão enzimática com a mistura das enzimas pectinase e celulase (100U/200U) por 40 minutos a 37°C. As lâminas foram preparadas de acordo com a técnica do esmagamento, e coradas com *Giemsa* 5% por 7 minutos.

*Hibiscus sabdariffa* L.: por apresentar fácil propagação sexual, desta espécie foram coletadas cerca de 30 sementes as quais foram colocadas para germinar em B.O.D. com temperatura de 27°C e luminosidade controlada. Nestas condições, as sementes germinaram em cerca de cinco dias, momento em que foi realizada a coleta dos hipocótilos às 11 horas da manhã. Os meristemas radiculares foram então submetidos ao tratamento com o bloqueador mitótico 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) 0,002 M, por 24 horas, a uma temperatura de 10° C, e posteriormente, fixados em *Carnoy*. Para a montagem das lâminas, os meristemas foram retirados da solução fixadora, lavados com água destilada três vezes por cinco minutos e submetidos à digestão enzimática com a mistura das enzimas pectinase e celulase (100U/200U) e pectoliase 5%, por 40 minutos a 37°C. As lâminas foram preparadas de acordo com a técnica de secagem à chama, e coradas com *Giemsa* 5% por 4 minutos.

As imagens das metáfases foram capturadas em microscópio de campo claro (*Leica DMLS*), equipado com microcâmera (*Nikon Digital Sight DS-Fi1*). De sete a dez imagens das melhores metáfases foram processadas no programa *Corel Photo Paint*, as quais foram utilizadas para as observações cromossômicas.

## 2.2 Quantificação do DNA

A quantificação do DNA nuclear presente em cada espécie foi realizada nos núcleos interfásicos em fase G1 (2C). O protocolo para as análises foi

realizado nas seguintes etapas: isolamento mecânico dos núcleos dos tecidos foliares das plantas, de acordo com metodologia citada por Galbraith et al. (2001), a qual isola os núcleos celulares por meio da maceração dos tecidos vegetais, com bisturi, em placa de Petri, contendo 1mL do tampão\* para a liberação dos núcleos.

Posteriormente, a suspensão nuclear foi filtrada em malha de cerca de 50  $\mu\text{m}$  e corada com 25 $\mu\text{L}$  do fluorocromo iodeto de propídio, o qual foi adicionado às células para que estas pudessem ser detectadas e quantificadas devido à fluorescência emitida pelo fluorocromo. A suspensão de células foi submetida à passagem em alta velocidade diante de uma fonte de luz ultravioleta, a qual foi convertida em pulsos elétricos processados para produzir sinais, cuja distribuição foi integrada em uma área, na forma de picos (Figuras 1 e 2). A fluorescência obtida no foco de luz é proporcional à quantidade de DNA nuclear, e a posição do pico reflete o nível de ploidia (DOLEZEL, 1997; BENNETT; LEITCH, 2011). Juntamente com as soluções foram adicionados também, 50  $\mu\text{L}$  de RNase, a fim de se evitar possíveis interferências devido à quantificação de RNA presente nas soluções.

Para a determinação da quantidade de DNA nuclear, as amostras dos tecidos foliares das espécies estudadas foram avaliadas juntamente com amostras de tecido foliar jovem de ervilha (*Pisum sativum*), tida como espécie padrão de referência, cujo tamanho do genoma foi previamente calibrado por Doležel (1992) em 9,06 pg.

As amostras foram analisadas após 5 minutos de incubação, em citômetro de fluxo FACS Calibur™ 4 Cores da BD (*Becton Dickinson*). Os histogramas foram gerados pelo software *Cell Quest* e analisados com o software *FlowJo X* (*Tree Star, Ashland, OR*). O conteúdo de DNA nuclear (pg)

---

\* Tampão *Marie*: utilizado na operação de maceração dos tecidos vegetais para a extração nuclear.

das amostras foi estimado por comparação ao pico G1 do padrão de referência obtido para o padrão *Pisum sativum* (9,06 pg).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Principalmente, por representarem diferentes famílias e espécies vegetais, os materiais avaliados apresentaram diferentes quantidades de DNA nuclear e seus cromossomos em número característico a cada espécie (Tabela 1; Figuras 1 e 2).

O conteúdo de DNA variou de 1,54 pg em *Stachys byzantina* a 7,05 pg em *Basella alba*. O número cromossômico das espécies variou de  $2n=14$  em *Rumex acetosa* a  $2n=72$  em *Hibiscus sabdariffa*.

Tabela 1 Resultados dos dados de citometria de fluxo e de quantificação de DNA nuclear das Hortaliças Não Convencionais estudadas e do padrão (*Pisum sativum* L.) utilizado.

<b>Espécie</b>	<b>DNA em pg</b>	<b>CV %</b>	<b>Nº Cromossomos</b>
<i>Rumex acetosa</i>	7,04	1,63	$2n=14$
<i>Basella alba</i>	7,05	1,71	$2n=44$
<i>Tropaeolum majus</i>	2,08	1,56	$2n=28$
<i>Stachys byzantina</i>	1,54	1,47	$2n=30$
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	5,12	1,73	$2n=72$
<i>Pisum sativum</i>	9,06	1,14	-

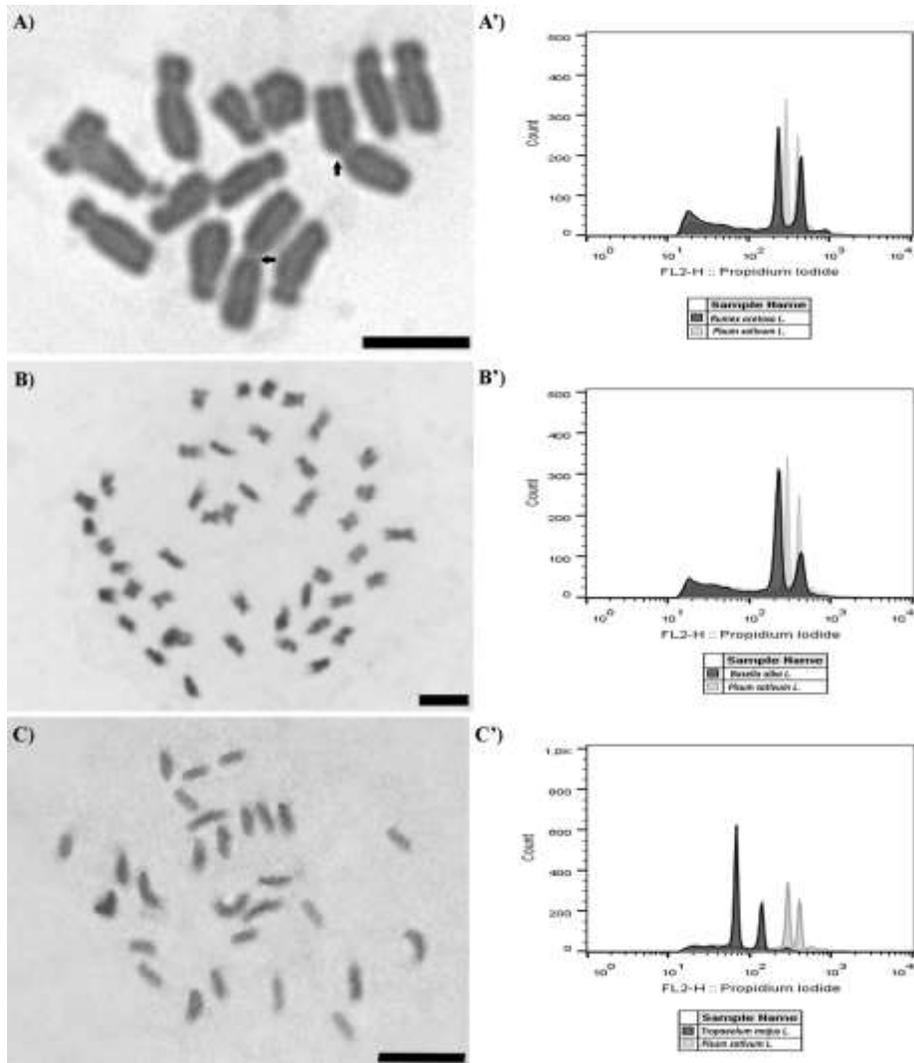


Figura 1 Metáfases mitóticas e os gráficos de picos de reflectância do DNA nuclear das espécies: A) *Rumex acetosa* L., ( $2n=14$ ), B) *Basella alba* L. ( $2n=44$ ) e C) *Tropaeolum majus* L. ( $2n=28$ ). As setas em A) *Rumex acetosa* L. indicam os cromossomos sexuais das plantas

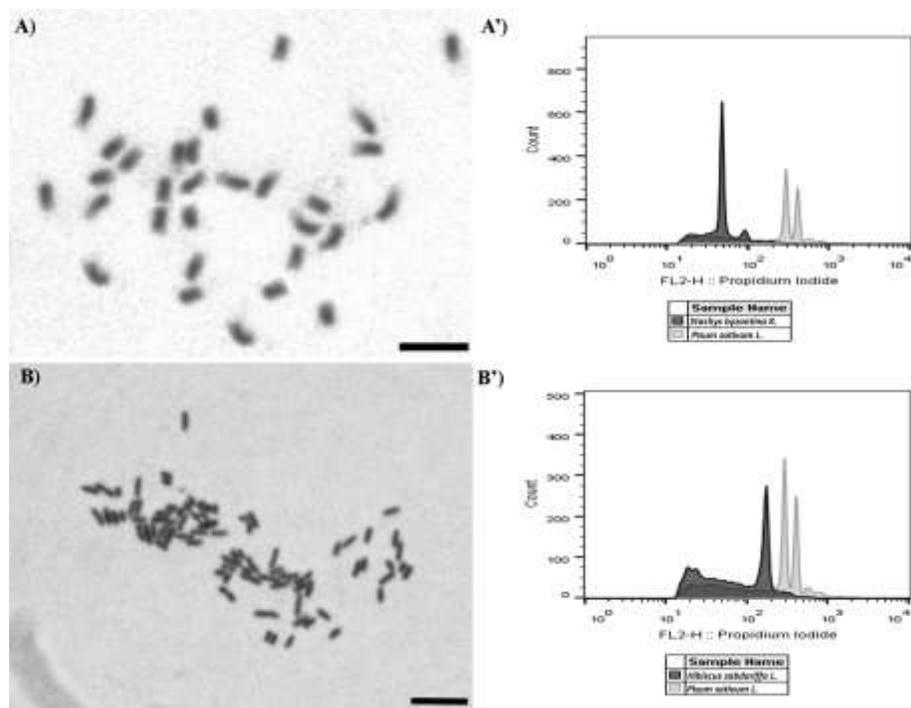


Figura 2 Metáfases mitóticas e os gráficos de picos de reflectância do DNA nuclear das espécies; A) *Stachys byzantina* K. Koch ( $2n=30$ ) e B) *Hibiscus sabdariffa* L. ( $2n=72$ ).

O número cromossômico  $2n=14$  observado em *Rumex acetosa* é similar aos resultados apresentados por AINSWORTH et al. (2005) e por MARIOTTI et al. (2006), obtidos para plantas de variedades cultivadas dessa espécie, diploides, femininas, estudadas na Inglaterra e na Espanha, respectivamente. De acordo com esses mesmos autores, *Rumex acetosa*, em suas variedades diploides, apresenta em plantas masculinas  $2n = 12 + XY1Y2$  cromossomos e em plantas femininas  $2n = 12 + XX$  cromossomos, indicando assim, que a população de plantas avaliadas neste trabalho foi composta por plantas femininas. Indivíduos femininos desta espécie apresentam 2 cromossomos sexuais (XX) na constituição de seu genoma, os quais podem ser identificados facilmente (Figura

1), por meio de sua morfologia, tamanho e posição metacêntrica dos centrômeros desses cromossomos (AINSWORTH et al., 2005).

Os resultados obtidos por citometria de fluxo demonstraram que a variedade estudada de *Rumex acetosa* apresentou em média 7,04 pg de DNA em seu genoma. Resultado similar foi obtido por Blocka-Wandas et al. (2007), que relataram que plantas femininas de variedade de azedinha, cultivada na Polônia, apresentam 7,00 pg de DNA nuclear, e que as plantas masculinas com um cromossomo adicional, apresentam em média 7,50 pg de DNA nuclear.

Vale ressaltar, que as avaliações citogenéticas de *Rumex acetosa* foram referentes às amostras da população de uma variedade cultivada (variedade de folhas estreitas), portanto, visando viabilizar um programa de melhoramento genético, visando explorar a variabilidade genética via cruzamentos, bem como a produção de sementes desta espécie. Novos estudos ampliando o número de plantas amostradas devem ser realizados, com a finalidade de se verificar a presença de plantas masculinas nesta população. Torna-se também fundamental, realizar novos estudos visando à caracterização citogenética da outra variedade dessa espécie (variedade folhas largas), presente nas coleções *in vivo* de hortaliças não convencionais da UFPA.

Bertalha (*Basella alba* L.) apresentou 44 cromossomos nas metáfases avaliadas. A literatura apresenta certa divergência para a descrição do número cromossômico desta espécie. Diferentemente do número cromossômico aqui observado em *Basella alba*, Hanson et al. (2005) relataram número de cromossomos para *Basella alba* de  $2n=48$ , mas citaram que existem plantas com  $2n=41$  e  $2n=44$ . Considerando que o número básico de cromossomos deste gênero é  $x=12$  (SPERLING; BITTRICH, 1993), a espécie avaliada por Hanson et al. (2005) seria tetraploide ( $2n=4x=48$ ), e as plantas de *Basella alba*, avaliadas neste estudo, teriam derivado por disploidia descendente, com a redução de 48 para 44 cromossomos.

Vários mecanismos podem estar envolvidos na variação do número de cromossomos dentro de uma mesma espécie, principalmente disploidias e poliploidias (GUERRA, 2008; LYSÁK; SCHUBERT, 2013; SOUZA et al., 2014), sendo que variações nos níveis de ploidia ocorrem regularmente durante o desenvolvimento de todas as plantas. Disploidia representa um aumento ou decréscimo no número de cromossomos sem a alteração da quantidade de DNA, como consequência do resultado de complexos mecanismos, muitas vezes envolvendo rearranjos estruturais a níveis subcromossômicos, muitos dos quais ainda são desconhecidos para muitos dos gêneros de plantas existentes. Enquanto que aneuploidia representa fenômenos de quando um ou mais cromossomos são perdidos ou acrescentados, em consequência principalmente, de deleções ou duplicações de gene, observado principalmente em indivíduos isolados. Estas modificações sofridas dentro do genoma podem ser tidas como letais ou até mesmo benéficas em ponto de vista evolutivo (GUERRA, 2008).

O conteúdo de DNA nuclear da variedade de *Basella alba* estudada foi 7,05 pg. Na literatura, existe relato da quantificação do DNA nuclear de *Basella alba* L. realizado por Hanson et al. (2005), em variedades originadas do Jardim Botânico Real de Londres, Inglaterra (<http://www.kew.org/>), o qual apresentou média de 7,13 pg de cDNA. Grasso e Morpurgo (1997) também quantificaram o DNA nuclear em três variedades de *Basella spp.* africanas, cultivadas e nativas, obtendo valores que variaram de 6,83, 5,73 e de 6,83 pg. Os valores apresentados na literatura variam aos 7,05 pg de DNA nuclear obtidos para a variedade de *Basella alba* L. estudada neste trabalho, entretanto, conforme Grasso e Morpurgo (1997) confirmaram, existem diferenças na quantidade do DNA nuclear entre as diferentes variedades desta espécie. Como estes autores não relataram o número cromossômico das espécies estudadas, não é possível inferir se as diferenças observadas no conteúdo de DNA nuclear têm relação com a ploidia. No caso da estimativa obtida por Hanson et al (2005), a diferença

pode ser atribuída aos 4 cromossomos excedentes observados nas plantas analisadas, em comparação com as plantas avaliadas neste estudo. Variações para tamanho de genoma têm sido relatadas para várias espécies, e podem ocorrer inclusive, em nível intraespecífico, tais como observado em soja (GRAHAM et al., 1994) e milho (RAYBURN et al., 1989). Em alguns casos, essas variações foram correlacionadas com gradientes ambientais ou condições de crescimento (DOLEZEL; BARTOS, 2005).

A espécie *Tropaeolum majus* L. apresentou 28 cromossomos representados por 2,08 pg de DNA nuclear. Este resultado para o número cromossômico também foi observado por Probatova et al. (2006), em variedades desta espécie cultivadas em Magadan, região pertencente à federação Russa, como também por Chen (2003), em variedades cultivadas na China. Considerando que o número básico de cromossomos é  $x=14$  (RAGHUVANSHI; PATHAK, 1974), pode-se inferir que a planta analisada é tetraplóide. Não há trabalhos atuais que descreveram a quantificação de DNA nuclear desta espécie. Há somente um relato em um trabalho publicado por Nagl et al. (1976), os quais apresentaram quantificação de 2,66 pg de DNA nuclear, e nível de ploidia de  $4x$  em variedade de capuchinha cultivada na Alemanha, indicando nível tetraploide para esta espécie. Essa quantificação foi realizada por meio de escaneamento densitométrico, e, portanto, os valores podem não ser comparáveis. Ainda assim, vale ressaltar que existe grande variabilidade genética dentro da espécie *T. majus* (KINUPP; LORENZI, 2014), da qual diferentes variedades morfogênicas são cultivadas.

A espécie *Stachys byzantina* K. Koch apresentou 30 cromossomos, corroborando com os relatos de Martin (2011), e também de Baltisberger (2002), os quais observaram 15 pares de cromossomos em variedades desta espécie cultivada na Turquia. Estes mesmos autores relataram o número cromossômico para o gênero em  $2n=30$ , indicando que a planta de *Stachys byzantina* é diploide.

*S. byzantina* é caracterizada ser uma espécie que apresenta ampla variabilidade genética, entre as diversas variedades cultivadas (BALTISBERGER, 2002). Esta espécie apresentou seu DNA nuclear quantificado em 1,54 pg. Não foram encontrados relatos de outros trabalhos que realizaram a quantificação do DNA nuclear desta espécie.

As metáfases mitóticas de *Hibiscus sabdariffa* L. apresentaram  $2n=72$  cromossomos. Este resultado concorda com o relatado por Guerra (2009), em variedades de *Hibiscus sabdariffa* cultivadas na Venezuela e também com o relatado por Hiron (2006), o qual observou este número cromossômico em variedades desta espécie cultivadas em Bangladesh. A planta é autopoliplóide, com um total de 72 cromossomos ( $2n=4x=72$ ), os quais se apresentam em 4 grupos com 18 cromossomos cada (HIRON, 2006). O DNA nuclear de *H. sabdariffa* foi quantificado em 5,12 pg, não existindo na literatura outros relatos da quantificação do genoma desta espécie, para fins de comparação.

Além das possíveis variações intraespecíficas do conteúdo de DNA nuclear nos vegetais, as metodologias para a quantificação do genoma nuclear por citometria de fluxo, estão sob influência de diversos fatores. Muitos são os fatores variáveis, tais como diversidade de metodologias para a obtenção e isolamento dos núcleos celulares, diferentes equipamentos, softwares e técnicas, bem como diferentes substâncias químicas utilizadas em todos os processos (LOUREIRO, 2007; SILVA et al., 2014).

A adaptação de protocolos específicos para a quantificação de DNA nuclear, de cada espécie, demanda estudos para se elucidar as técnicas mais apropriadas em cada caso. O indicativo mais utilizado para verificar a qualidade das análises realizadas por citometria de fluxo é o coeficiente de variação, o qual é apresentado juntamente com a saída de dados estatísticos de cada amostra avaliada. De acordo com Marie e Brown (1993), valores obtidos entre 1 % e 2 % para coeficientes de variação, em análises de amostras em citometria de fluxo,

são tidos como de alta qualidade, sendo assim, as avaliações realizadas em todas as espécies estudadas neste trabalho se apresentaram dentro do padrão considerado como alta qualidade, pois todos os resultados de % CV observados para as análises apresentaram valores inferiores a 2 % (Tabela 1).

Existem informações de que a quantidade de DNA nuclear nem sempre está correlacionada com o número cromossômico, sendo possível observar grande quantidade de DNA nuclear tanto em organismos com maiores números cromossômicos, quanto que em organismos representados por menores números cromossômicos (HANSON et al., 2005). Por meio das avaliações realizadas concluiu-se que *Rumex acetosa* apresentou seu DNA nuclear em 7,04 pg representado por 14 cromossomos em cada núcleo celular, enquanto que *Basella alba* apresentou quantidade similar de DNA nuclear quantificado em 7,05 pg, entretanto, neste último caso, representado por 44 cromossomos. Vale ressaltar, que os cromossomos de *Rumex acetosa* se apresentam em tamanho individual muito superior ao tamanho apresentado pelos cromossomos de *Basella alba*. Outro exemplo que corrobora para esta análise é de que foram observados 28 cromossomos representando o genoma de *Tropaeolum majus*, contendo 2,08 pg de DNA nuclear, enquanto que para a espécie *Stachys byzantina* foi observado maior número cromossômico ( $2n=30$ ), representando um menor conteúdo de DNA nuclear, em média de 1,54 pg.

Uma das possíveis explicações para estas variações em quantidade de DNA, inferida em número cromossômico, é de que algumas espécies apresentam seu genoma constituído por grande quantidade de DNA, altamente repetitivo ou mesmo por regiões ou genes duplicados contendo maior quantidade de DNA, o que ocorre mais comumente em plantas contendo genomas maiores (LYSÁK; SCHUBERT, 2013).

## 5 CONCLUSÕES

As espécies *Rumex acetosa* L., *Tropaeolum majus* L. e *Stachys byzantina* K. Koch são diploides, com  $2n=14$ ,  $2n=28$  e  $2n=30$ , respectivamente.

O número cromossômico ( $2n=44$ ) de *Basella alba* L. pode ter derivado por disploidia descendente a partir do número  $2n=4x=48$ .

*Hibiscus sabdariffa* L. é tetraploide com  $2n=72$  cromossomos.

As plantas de *Rumex acetosa* L. Avaliadas são femininas, diploides com  $2n=14$  cromossomos, representados por  $2n = 12 + XX$ .

As estimativas do conteúdo de DNA nuclear das espécies *Stachys byzantina* K. Koch e *Hibiscus sabdariffa* L. são inéditas, sendo determinadas 1,54 pg e 5,12 pg, respectivamente.

## REFERÊNCIAS

AINSWORTH, C.; RAHMAN, A.; PARKER, J.; EDWARDS, G. Intersex inflorescences of *Rumex acetosa* demonstrate that sex determination is unique to each flower. **New Phytologist**, v. 165, n. 3, p. 711-720, 2005. ISSN 1469-8137.

BAETCKE, K.; SPARROW, A. H.; NAUMAN, C.; SCHWEMMER, S.S. The relationship of DNA content to nuclear and chromosome volumes and to radiosensitivity (LD50). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 58, n. 2, p. 533, 1967.

BALTISBERGER, M. Cytological investigations on some Albanian plant species. **Candollea**, v. 56, n. 2, p. 245-259, 2002.

BENNETT, M.; LEITCH, I. Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. **Annals of Botany**, v. 107, n. 3, p. 467-590, 2011. ISSN 0305-7364.

BLOCKA-WANDAS, M.; SLIWINSKA, E.; GRABOWSKA-JOACHIMIAK, A.; MUSIAL, K.; JOACHIMIAK, A.J. Male gametophyte development and two different DNA classes of pollen grains in *Rumex acetosa* L., a plant with an XX/XY1Y2 sex chromosome system and a female-biased sex ratio. **Sexual Plant Reproduction**, v. 20, n. 4, p. 171-180, 2007. ISSN 0934-0882.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Alimentos regionais brasileiros**. Brasília, 2002. 141 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Hortaliças Não-Convencionais (Tradicionalis)**. Brasília, 2010. 54 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de Hortaliças Não-Convencionais**. Brasília: MAPA/ACS. 2013. 99 p.

CARDOSO, M. O. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Serviço de Produção de Informação, 1997. **Hortaliças não-convencionais da Amazônia**. ISBN 8585007672.

CHEN, R. **Chromosome atlas of major economic plants genome in China**: Chromosome atlas of garden flowering plants in China/authors: Chen Ruiyang...[et al.]. Science Press, 2003. ISBN 7030122739.

CHEN, W.; KAO, Y.; TANG, C.; TSAI, C.; LIN, T. Estimating nuclear DNA content within 50 species of the genus *Phalaenopsis Blume* (Orchidaceae). **Scientia Horticulturae**, v. 161, p. 70-75, 2013. ISSN 0304-4238.

CUÑADO, N.; NAVAJAS-PÉREZ, R.; DE LA HERRÁN, R.; REJÓN, C. R.; REJÓN, M.R.; SANTOS, J.L.; GARRIDO-RAMOS, M.A. The evolution of sex chromosomes in the genus *Rumex* (Polygonaceae): identification of a new species with heteromorphic sex chromosomes. **Chromosome Research**, v. 15, n. 7, p. 825-833, 2007. ISSN 0967-3849.

DOLEZEL, J. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of Applied Genetics**, v. 38, p. 285-302, 1997. ISSN 1234-1983.

DOLEŽEL, J.; SGORBATI, S.; LUCRETTI, S. Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. **Physiologia plantarum**, v. 85, n. 4, p. 625-631, 1992. ISSN 1399-3054.

DOLEZEL, J.; BARTOS, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, v. 95, p. 99-110, 2005.

FLAVELL, R.; BENNETT, M.; SMITH, J.; SMITH, D. Genome size and the proportion of repeated nucleotide sequence DNA in plants. **Biochemical genetics**, v. 12, n. 4, p. 257-269, 1974. ISSN 0006-2928.

GALBRAITH, D.W.; LAMBERT, G.M.; MACAS, J.; DOLEZEL, J. Analysis of nuclear DNA content and ploidy in higher plants. **Current protocols in cytometry**, p. 7.6. 1-7.6. 22, 2001. ISSN 0471142956.

GRAHAM, M. J.; NICKELL, C. D.; RAYBURN, A. L. Relationship between genome size and maturity group in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 88, p. 429-432, 1994.

GRASSO, G.; MORPURGO, R. DNA ANALYSIS IN THREE POPULATIONS XA9744550 OF AFRICAN SPINACH {*Basella* spp.}. **Improvement of basic food crops in Africa through plant breeding, including the use of induced mutations**, p. 39, 1997.

GUERRA, N.A. Estudos citogenéticos de *Hibiscus sabdariffa* L.(Malvaceae). **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 9, n. 3, p. 595-598, 2009. ISSN 1317-9152.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and genome research**, v. 120, n. 3-4, p. 339-350, 2008. ISSN 1424-859X.

GUERRA, M.; SOUZA, M.D. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.

HANSON, L.; BOYD, A.; JOHNSON, M.A.; BENNETT, M.D. First nuclear DNA C-values for 18 eudicot families. **Annals of Botany**, v. 96, n. 7, p. 1315-1320, 2005. ISSN 0305-7364.

HIRON, N.; ALAM, N.; AHMED, F.A.; BEGUM, R.; ALAM, S.S. Differential Fluorescent Banding and Isozyme Assay of *Hibiscus cannabinus* L. and *H. sabdariffa* L.(Malvaceae). **Cytologia**, v. 71, n. 2, p. 175-180, 2006. ISSN 0011-4545.

KINUPP, V.F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil**: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 768 p.

LYSÁK, M.A.; SCHUBERT, I. Mechanisms of chromosome arrangements. Springer, **Plant Genome Diversity**, v. 2, 2013. ISBN 3709111595.

LOUREIRO, J.C.M. **Aplicação da citometria de fluxo ao estudo do genoma vegetal**. 2007. 268 p. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade, Aveiro. 2007.

MARIE, D.; BROWN, S.C. A cytometric exercise in plant DNA histograms, with 2C values for 70 species. **Biology of the Cell**, v. 78, n. 1-2, p. 41-51, 1993. ISSN 1768-322X.

MARIOTTI, B.; NAVAJAS-PÉREZ, R.; LOZANO, R.; PARKER, J.S.; DE LA HERRÁN, R.; REJÓN, C. R.; REJÓN, M.R.; GARRIDO-RAMOS, M.; JAMILÉNA, M. Cloning and characterization of dispersed repetitive DNA derived from microdissected sex chromosomes of *Rumex acetosa*. **Genome**, v. 49, n. 2, p. 114-121, 2006. ISSN 0831-2796.

MARTIN, E.; ÇETIN, Ö.; AKCICEK, E.; DIRMENCI, T. New chromosome counts of genus *Stachys* (Lamiaceae) from Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v. 35, n. 6, p. 671-680, 2011. ISSN 1303-6106.

NAGL, W. Early embryogenesis in *Tropaeolum majus* L.: Evolution of DNA content and polyteny in the suspensor. **Plant Science Letters**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 1976. ISSN 0304-4211.

NAVAJAS-PÉREZ, R.; SCHWARZACHER, T.; DE LA HERRÁN, R.; REJÓN, C.R.; REJÓN, M.R.; GARRIDO-RAMOS, M.A. The origin and evolution of the variability in a Y-specific satellite-DNA of *Rumex acetosa* and its relatives. **Gene**, v. 368, p. 61-71, 2006. ISSN 0378-1119.

PROBATOVA, N.; RUDYKA, E.; PAVLOVA, N.; VERKHOKAT, V.; NECHAEV, V. Chromosome numbers of plants of the Primorsky Territory, the Amur River basin and Magadan region. **Botanicheskii Zhurnal**, v. 91, p. 491-509, 2006.

RAGHUVANSHI, S. S.; PATHAK, C. S. Ploidy Barrier in *Tropaeolum Majus* L. **Caryologia**, v. 27, n. 2, p. 225-235, 1974.

RAYBURN, A. L. et al. Detection of intraspecific DNA content variation in *Zea mays* L. by flow cytometry. **Journal of Experimental Botany**, v. 40, p. 1179-1783, 1989.

SILVA, R.A.L.; PIO, L.A.S.; PASQUAL, M.; DE OLIVEIRA, A.C.L.; RODRIGUES, F.A.; DE OLIVEIRA, S. An assessment of software for flow cytometry analysis in banana plants. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 775-780, 2014. ISSN 1679-0359.

SOUZA CHIES, T. T.; BURCHARDT, P.; ALVES, E. M. S.; ESSI, L.; DOS SANTOS, E. K. O estudo da biodiversidade e evolução vegetal através de marcadores de DNA e citogenética: exemplos em Iridaceae e Poaceae. **Ciência e Natura**, v. 36, n. 3, p. 279-293, 2014. ISSN 2179-460X.

VIŽINTIN, L.; KOSOVEL, V.; FEOLI CHIAPPELLA, L.; BOHANEK, B. Genetic characterization of *Genista sericea* Wulfen (Cytiseae-Fabaceae) as revealed by nuclear DNA content and ITS nrDNA region analysis. **Acta Botanica Croatica**, v. 71, n. 2, p. 195-205, 2012. ISSN 0365-0588.

## CAPÍTULO 4

### Nutrição mineral, densidade de plantio e caracterização biométrica e fenológica da azedinha e do peixinho

#### RESUMO

A azedinha (*Rumex acetosa* L.) e o peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch) são exemplos de espécies alimentícias subutilizadas, caracterizadas como hortaliças não convencionais, no Brasil. Atualmente tem-se bastante incentivo governamental em prol do resgate e reintrodução dessas duas espécies na alimentação do brasileiro, entretanto, existem poucas informações disponíveis no que se referem às técnicas indicadas para o cultivo e para a produção agrícola de cada uma delas. Com isso, os objetivos do trabalho foram avaliar o comportamento das culturas da azedinha e do peixinho, em quatro níveis de adubação, supridos por meio de formulados NPK, compostos pela testemunha (nenhum adubo químico), e por variações obtidas a partir de adaptações das recomendações para a adubação de culturas folhosas; avaliar o comportamento das culturas, quando conduzidas em diferentes densidades de plantio, com variações de 70.000 a 90.000 plantas.ha<sup>-1</sup> em azedinha e de 66.666 a 200.000 plantas.ha<sup>-1</sup> em peixinho, bem como realizar a caracterização dos estádios fenológicos dessas espécies no sul de Minas Gerais. Os índices produtivos de azedinha (*Rumex acetosa* L.) e do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch) variaram significativamente quando as culturas foram submetidas aos diferentes níveis de espaçamentos e adubações, sendo que os melhores resultados produtivos obtidos com as culturas foram de 75 e 48,05 Mg.ha<sup>-1</sup> respectivamente. A cultura da azedinha foi mais produtiva quando conduzida em espaçamento mais adensado, correspondendo a 30 cm entre plantas por 35 cm entre linhas, quando associada à adubação de 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 60 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 100 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. A cultura do peixinho foi mais produtiva quando conduzida em espaçamento menos adensado, de 50 cm entre plantas por 30 cm entre linhas, sob a adubação de 300 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 240 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 800 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Os ciclos das culturas, do plantio à colheita, foram estabelecidos em 100 e 140 dias após o plantio para a cultura da azedinha e do peixinho, respectivamente.

Palavras-chave: *Rumex acetosa* L., *Stachys byzantina* K. Koch. Ciclo produtivo. Indicações agrônômicas de cultivo. Hortaliças não convencionais.

## Mineral nutrition, planting density and biometric and phenology characteristics from sorrel and lamb's ear

### ABSTRACT

The sorrel (*Rumex acetosa* L.) and the lamb's ear (*Stachys byzantina* K. Koch) are examples of underutilized human food species, characterized as unconventional vegetables in Brazil. Currently there are government incentives on the rescue and reintroduction of these species in the Brazilian food, however, there is little information on the suitable technical for the agricultural production in each crop. Thus, the objectives were to evaluate these crops in four fertilization levels, supplied by formulated compounds of NPK, assess the crops in different planting densities, with variations 70-90 thousands of plants.ha<sup>-1</sup> in sorrel and 66-200 thousands plants.ha<sup>-1</sup> in lamb's ear, as well as characterize the phenological stages of such species in south of Minas Gerais. The production rates of sorrel and lamb's ear varied significantly when cultures were subjected to different levels of spacing and fertilization, and the best productive results obtained from the crops were 75 and 48.05 Mg.ha<sup>-1</sup> respectively. Sorrel was most productive when conducted in a denser spacing, corresponding to 30 cm between plants per 35 cm between rows, when in combination to fertilization of 150 kg ha<sup>-1</sup> N, 60 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O and 100 kg ha<sup>-1</sup> of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. The lamb's ear crop was more productive when conducted in less dense spacing, corresponding to 50 cm between plants per 30 cm between rows, under the fertilization of 300 kg ha<sup>-1</sup> N, 240 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O and 800 kg.ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. The cycles of each crop, from planting to harvest, were established in 100 and 140 days after planting in the sorrel and in the lamb's ear respectively.

Keywords: *Rumex acetosa* L.. *Stachys byzantina* K. Koch. Crop cycles. Agronomic cultivation techniques. Unconventional vegetables.

## 1 INTRODUÇÃO

Muito se fala sobre a grande disponibilidade de recursos vegetais e florísticos no Brasil, entretanto, poucas são as espécies utilizadas atualmente como alimento, pelas populações. Na história da humanidade, há registro de que mais de sete mil espécies de plantas já foram utilizadas como alimento, embora, atualmente, seja fato que poucas culturas supram a alimentação mundial, uma vez que 75% dos alimentos produzidos são correspondentes somente a 12 espécies vegetais e cinco espécies animais (FAO, 1999). Juntas, as culturas de três cereais (arroz, milho e trigo) são responsáveis por mais de 50% das calorias ingeridas pelo homem (FAO, 2014). Há carência de estudos científicos sobre muitas das espécies vegetais consideradas alimentícias; grande parte das informações sobre possíveis utilidades e sobre as técnicas para cada cultivo é gerada por conhecimento popular, sem que haja investigações científicas mais profundas.

A azedinha (*Rumex acetosa* L.) é caracterizada como hortaliça não convencional, sendo uma planta herbácea, perene, pertencente à família Polygonaceae (BRASIL, 2010a; 2013; KINUPP; LORENZI, 2014). Suas folhas são passíveis de serem utilizadas *in natura* em forma de saladas, em refogados, *drinks* ou sucos. Tem-se dado atenção especial a esta espécie, principalmente por possuir elevado teor de resveratrol, um poderoso antioxidante, passível de ser extraído, purificado e utilizado para produção de compostos nutraceuticos (fármacos ou alimentos), com atividade anti-inflamatória, antiviral, cardioprotetora, neuroprotetora, e atividade protetora do organismo em geral, reduzindo o risco de infecções, de diabetes tipo 1 e 2, de obesidade, e prevenindo o envelhecimento (SOUTO, 2011). Seu centro de origem ainda é incerto e existem indícios de sua utilização na culinária, em diferentes países. A literatura também demonstra potencial alimentício a partir de minerais,

vitaminas, fibras, nutrientes e proteínas presentes em suas folhas (LADEJI, 1993; BRASIL, 2010a; 2013; SILVA et al., 2013), entretanto, por ser rústica e agressiva, muitas vezes é considerada espécie invasora.

Peixinho, orelha de lebre, orelha de cordeiro ou pulmonária, são alguns dos nomes populares da espécie *Stachys byzantina* K. Koch (syn. *Stachys lanata*), uma planta herbácea, perene, da família Lamiaceae, encontrada espontaneamente em regiões de clima ameno da Europa e Ásia em forma de touceiras (BRASIL, 2013; KINUPP; LORENZI, 2014). No Brasil, é uma espécie considerada hortaliça não convencional, e há relatos do consumo de suas folhas frescas, empanadas, fritas, ou em forma de chás ou infusão. Dificilmente floresce em condições brasileiras, e por isso, sua multiplicação geralmente é realizada por divisão das touceiras (BRASIL, 2010a; b). Existe grande interesse farmacológico em *Stachys byzantina*, especialmente por apresentar efeito anti-inflamatório, anticancerígeno e de inseticida, e também há relato do bom potencial nutricional dessa espécie, principalmente por apresentar em sua constituição, elevados teores de vitamina C, vitamina K, carboidratos, e potencial antioxidante (ASNAASHARI et al., 2010; BRASIL, 2010a; 2013; KINUPP; LORENZI, 2014).

Apesar do aumento do incentivo governamental para o resgate e uso destas duas hortaliças não convencionais na alimentação nacional, existem poucas informações disponíveis para o cultivo e para a produção de cada uma delas nas condições edafoclimáticas brasileiras, tais como ciclo da cultura, propagação, densidade de plantas por área de terreno em um espaçamento adequado, adubação e nutrição das culturas, irrigação, controle de pragas e doenças, colheita etc. Tampouco existem disponíveis cultivares e materiais propagativos para o plantio, bem como a caracterização de algumas variedades já cultivadas. Normalmente, estas espécies são cultivadas tomando-se como indicações as já definidas para as culturas de hortaliças folhosas convencionais,

tal como os níveis de adubação indicados para a cultura da alface (BRASIL, 2013).

Para garantir a qualidade e a produtividade de uma cultura, o conhecimento fitotécnico deve estar disponível ao agricultor, principalmente relacionado com o manejo apropriado para cada cultura, tais como as operações de semeadura, adubação e correção da acidez do solo, irrigação, densidade de plantio, estádios fenológicos, ponto de maturidade fisiológica da cultura, controle de pragas e doenças, e todos os tratos culturais para melhor condução da cultura, gerando maiores produtividades. Por isso, estudos fitotécnicos são de suma importância para se obter o conhecimento básico e fundamental para a realização de qualquer cultivo agrícola, e também para que se obtenham os melhores resultados de produtividade e qualidade dos produtos gerados (FILGUEIRA, 2006; BORÉM; MIRANDA, 2009).

Devido a grande importância da caracterização e do conhecimento do comportamento vegetativo das diferentes culturas, é primordial elucidar os dados do ciclo de vida, das diferentes espécies vegetais, para assim, fundamentar o planejamento de qualquer tipo de produção agrícola. Também é de grande valia obter a caracterização biométrica dos diferentes órgãos de interesse presentes nas espécies vegetais, tais como largura, comprimento área e/ou volume dos produtos colhidos. Por meio da biometria, pode-se além da caracterização do produto de interesse presente em uma espécie ou variedade cultivada, obter índices que servirão para o planejamento da produção (FLUMIGNAN et al., 2008; DE MORAES et al., 2013). Por apresentarem grande capacidade de adaptação a diferentes ambientes, plantas com um mesmo genótipo podem apresentar diferenças biométricas e produtivas quando conduzidas em diferentes condições de luminosidades, solos e ambientes em geral (RADIN et al., 2004; FLUMIGNAN et al., 2008; LIMA et al., 2013; DE MORAES et al., 2013; SILVA, 2014; ZIECH et al., 2014).

Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar as culturas da azedinha e do peixinho, em diferentes níveis de adubação e densidade de plantio, por meio das características produtivas e biométricas de folhas, bem como realizar a caracterização dos estádios fenológicos dessas espécies no sul de Minas Gerais.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram implantados quatro experimentos em campo, dois com respectivos objetivos de se avaliar os estádios fenológicos das culturas da azedinha (*Rumex acetosa* L.) e do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch), e os outros dois, com respectivos objetivos de se avaliar os caracteres produtivos dessas culturas submetidas a diferentes níveis de densidade de plantio e adubação.

### 2.1 Experimentos 1 e 2: propagação do material vegetal e avaliação dos estádios fenológicos

As mudas de azedinha (*Rumex acetosa* L.) e de peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch) foram multiplicadas a partir das melhores touceiras dessas espécies, presentes na coleção *in vivo* de hortaliças não convencionais da Universidade Federal de Lavras. De cada touceira foram retirados os propágulos (segmentos contendo de 5 a 7 perfilhos em azedinha e um segmento contendo uma planta em peixinho), os quais foram preparados para dar origem às novas mudas de cada espécie, transplantadas diretamente para as condições de campo, em um espaçamento de 30 X 35 cm para a cultura da azedinha, e de 20 x 25 cm para a cultura do peixinho, ambas em canteiros com as dimensões de 1,25 metros de largura por 0,25 metros de altura.

O experimento com azedinha (*Rumex acetosa* - experimento 1) constitui-se de um total de 81 plantas, as quais foram dispostas em delineamento em blocos ao acaso, com 5 repetições. O experimento com peixinho (*Stachys byzantina* - experimento 2) constitui-se de 90 plantas no total, as quais também foram dispostas em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Em

ambos os experimentos, os dados foram obtidos das plantas centrais de cada bloco, sendo o restante, considerado bordadura.

A irrigação foi por gotejamento, mantendo-se as mesmas condições de manejo para todas as plantas, em ambas as culturas. Ambos os experimentos foram implantados em campo, em março de 2013, no setor de olericultura da Universidade Federal de Lavras, área experimental, latitude 21°14'S, longitude 45°00'W e altitude média de 918 metros. O clima da região é classificado como temperado úmido, com verão quente e inverno seco, sendo, portanto, do tipo Cwa na classificação de Köppen.

As classes para os estádios fenológicos foram obtidas de acordo com adaptações da codificação unificada, dos estádios fenológicos de desenvolvimento de culturas (BBCH-code), o qual se fundamenta na classificação binária dos estádios fenológicos das culturas, de acordo com os macros estádios (primeiro dígito) e micros estádios (segundo dígito) das culturas (LANCASHIRE et al., 1991). Os dados coletados foram referentes aos dias após o plantio (DAP), inferidos nos seguintes caracteres em campo: início e fim do intumescimento dos órgãos propagativos, contagem da primeira até nove ou mais folhas visíveis, e contagem do número de folhas desenvolvidas com as plantas em campo, em diferentes dias após o plantio. Após a colheita das folhas, de cada planta foram avaliados o número total de folhas e o número total de folhas desenvolvidas.

Os dados referentes ao início e ao fim do intumescimento dos propágulos, e início da formação das primeiras raízes, foram estimados por meio de observações visuais, no momento em que foi constatado, que aparentemente, mais de 80% dos propágulos exibiam essas condições em determinados dias após o plantio (DAP), em função de que nos primeiros 10 dias após o plantio, a irrigação foi suprida de modo que a umidade do solo se mantivesse próxima à capacidade de campo.

As demais avaliações foram realizadas de dois em dois dias, contabilizando as folhas aparentes até 30 DAP. Posteriormente, aos 30 DAP, foi contabilizado o número total de folhas por planta, e o número total de folhas desenvolvidas por planta, em diferentes fases do ciclo de cada espécie, conforme descrito a seguir.

Experimento 1 (*Rumex acetosa* L.): levando-se em conta que as folhas de azedinha desenvolvidas e maiores que 10 cm de comprimento, são consideradas aptas para a comercialização (BRASIL, 2010a; b), foi realizada a contagem das folhas comerciais aos 30 DAP e aos 70 DAP. Após a colheita de todas as folhas por planta (cerca de 100 DAP), em cada planta foi avaliado o número total de folhas, e o número total de folhas consideradas comerciais (maiores que 10 cm de comprimento).

Experimento 2 (*Stachys byzantina* K. Koch): levando-se em conta que as folhas de peixinho desenvolvidas, e maiores que 8 cm, são consideradas aptas para a comercialização (BRASIL, 2010a; b), foi realizada a contagem do número de folhas comerciais aos 45 DAP e aos 90 DAP. Após a colheita das folhas aos 140 DAP, em cada planta foi avaliado o número total de folhas, e o número total de folhas consideradas comerciais (maiores que 8 cm de comprimento).

De cada conjunto de dados foram obtidos valores referentes à média, à mediana, à moda e ao desvio padrão, bem como, depois de confirmada a normalidade dos dados, às análises de regressão, visando relacionar a quantidade de folhas comerciais observada em dias após o plantio (DAP), em cada cultura. Após a colheita, as touceiras remanescentes em campo continuaram sendo manejadas e multiplicadas, para serem utilizadas como fonte de material, para os seguintes experimentos.

## 2.2 Experimentos 3 e 4 - Avaliação da influência de diferentes espaçamentos e adubações na produtividade e em caracteres biométricos das culturas

Os experimentos foram implantados em campo, tendo como principais objetivos avaliar a produtividade e os caracteres biométricos das culturas da azedinha (*Rumex acetosa* L.) e do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch), quando submetidas a diferentes níveis de adubação e de densidade de plantio. Em ambos os experimentos, foi adotado o delineamento estatístico em blocos ao acaso, com parcelas subdivididas. Assim, em campo, cada bloco conteve duas parcelas principais, cada uma recebendo um dos níveis dos espaçamentos a serem estudados, e cada parcela dessas foi subdividida em quatro subparcelas, cada uma recebendo um nível de adubação. Em cada experimento, como fonte de dados, foram consideradas as plantas centrais de cada bloco, sendo o restante considerado bordadura.

As formulações químicas adotadas como diferentes tratamentos de adubação implantados nos experimentos, foram produzidas utilizando-se sulfato de amônio (18% N), superfosfato simples (18% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e cloreto de potássio (60% K), como fontes dos nutrientes, nitrogênio, fósforo e potássio respectivamente.

Experimento 3: Cultura da azedinha (*Rumex acetosa* L.): Implantado em 15/08/13, no campo experimental do já citado setor de Olericultura da UFLA. O experimento foi composto por um total de 768 plantas, cultivadas sob duas densidades de plantio e quatro níveis de adubação, baseados na variação da recomendação para hortaliças folhosas, disponível na literatura (RIBEIRO, 1999). Na primeira densidade (E1) o espaçamento foi de 35 cm entre plantas e 40 cm entre linhas, resultando em uma densidade de 0,14 m<sup>2</sup> de área do solo ocupada por planta (7 plantas.m<sup>2</sup>), enquanto que para a 2<sup>a</sup> densidade (E2) o espaçamento foi de 30 cm entre plantas e 35 cm entre linhas, resultando em uma densidade de 0,105 m<sup>2</sup> de área do solo ocupada por planta (9 plantas.m<sup>2</sup>).

Foram produzidos 4 níveis de adubação NPK, compostos pela testemunha (nenhum adubo químico), e por variações obtidas a partir de adaptações das recomendações para a adubação de culturas folhosas, tendo em vista a boa disponibilidade de P e de K no solo experimental, obtida mediante análise química prévia. Os níveis de adubação foram os seguintes: A1 = nenhum adubo químico; A2 = 75 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 30 kg.ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O e 50 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; A3 = 115 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 45 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 75 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; A4 = 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N; 60 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 100 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Após a colheita, realizada em cerca de 100 DAP, foram avaliadas as seguintes variáveis: produtividade de massa fresca (Mg.ha<sup>-1</sup>), comprimento das folhas (cm), largura das folhas (cm), diâmetro da touceira (cm), número total de folhas, número total de folhas comerciais (> 10 cm de comprimento) e número total de folhas não comerciais (< 10 cm de comprimento).

Experimento 4: Cultura do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch): implantado em 15/06/2014, foram utilizados dois níveis de densidade de plantio, baseados nas indicações de um espaçamento entre plantas de 20 cm e de 25 cm entre linhas (MAPA, 2010), resultando em 0,05 m<sup>2</sup> de área de solo ocupada por planta (20 plantas.m<sup>2</sup>), e um espaçamento de 50 cm entre plantas e 30 cm entre linhas (cerca de 6 plantas.m<sup>2</sup>) (SILVA-JÚNIOR, 1997), resultando em 0,15 m<sup>2</sup> de área de solo ocupada por planta.

Foram utilizadas quatro diferentes doses de adubação adaptadas das indicações para culturas de hortaliças folhosas (RIBEIRO, 1999), verificando-se baixa disponibilidade de P e de K, mediante prévia análise química do solo. Os seguintes tratamentos foram adotados para as adubações: A1 = nenhum adubo químico; A2 = 75 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 60 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 200 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; A3 = 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N; 120 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 400 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; A4 = 300 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 240 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 800 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Cerca de 140 dias após o plantio foi realizada a colheita e a avaliação dos seguintes caracteres: produtividade de

matéria fresca ( $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), comprimento das folhas (cm), largura das folhas (cm), número total de folhas, número total de folhas comerciais ( $> 8$  cm de comprimento) e número total de folhas não comerciais ( $< 8$  cm de comprimento).

Em ambos os experimentos, as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se a plataforma R, por meio do software *Action* (ESTATCAMP, 2014). Dados com distribuição anormal foram transformados de acordo com técnica específica, e os dados que apresentaram distribuição normal foram diretamente submetidos à análise de variância e regressão, quando cabível.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Estádios fenológicos da cultura da azedinha (*Rumex acetosa* L.) – Experimento 1

A colheita de *Rumex acetosa* L. foi realizada em cerca de 100 dias após o plantio, e este momento foi determinado por meio das observações de que as plantas apresentavam maior parte de suas folhas em tamanho comercial (> 10 cm de comprimento), e de que algumas das folhas mais antigas já apresentavam certa descoloração, o que poderia ser entendido como perda, se a colheita não fosse realizada neste período.

Como a cultura não floresce na região, somente foram definidos o macro estágio 0 (enraizamento e brotações dos órgãos propagativos), o macro estágio 1 (desenvolvimento das folhas) e o macro estágio 2 (crescimento/desenvolvimento das folhas comerciais), em dias após o plantio (DAP) (Tabela 1).

Como estágio inicial, no macro estágio 0, foi definido o momento em que os órgãos propagativos estavam em fase dormente, antes de serem transplantados ao campo, em 0 DAP. A partir desse momento, foi observado quando a média geral dos propágulos começaram seu intumescimento, o que ocorreu cerca de 3 DAP, e quando a maior parte deles não apresentavam mais variação em seu tamanho ou turgidez, marcando essa data como fim do intumescimento, o que ocorreu cerca de 5 DAP. As primeiras raízes laterais apresentaram-se visíveis em cerca de 7 DAP.

O macro estágio 1 foi definido como a fase de brotação das folhas, onde foi inferido a quantidade de folhas visíveis em DAP. Os resultados indicam que as plantas de azedinha levaram cerca de 20 dias para apresentarem nove ou

mais folhas visíveis. Vale ressaltar, que nessa etapa foi contabilizado o número de folhas independente do tamanho e desenvolvimento de cada folha.

No macro estágio 2 (crescimento vegetativo/desenvolvimento de folhas comerciais), a cultura apresentou aos 30 DAP em média 35 folhas comerciais (maiores que 10 cm), correspondendo a cerca de 20% do total das folhas nesta fase de desenvolvimento. Aos 70 DAP, as plantas apresentaram em média 71 folhas em tamanho comercial, correspondendo a cerca de 50% da produção total de folhas. Em ocasião da colheita, realizada aos 100 DAP, foi constatado que as plantas produziram em média, um total de 155 folhas, das quais 105 apresentaram tamanho comercial. Com isso, infere-se que a cultura da azedinha apresentou após a colheita cerca de 70% de suas folhas, em tamanho considerado comercial.

Foi realizada a análise de regressão relacionando o número de folhas comerciais apresentadas pela cultura, em diferentes dias após o plantio (Tabela 2), por meio da qual se obteve o seguinte modelo matemático:  $y = 1,04x$ ; onde  $y$  = número de folhas comerciais e  $x$  = dias após o plantio.

### **3.2 Estádios fenológicos da cultura do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch) – Experimento 2**

A colheita de *Stachys byzantina* K. Koch foi realizada cerca de 140 dias após o plantio, momento determinado por meio das observações de que boa parte das folhas por planta apresentava tamanho comercial, e algumas das folhas mais antigas, já apresentavam certo amarelecimento. Da mesma forma que para a cultura da azedinha, a cultura do peixinho também não floresce nas condições climáticas da região do sul de Minas Gerais, e por isso, somente foram definidos o macro estágio 0 (enraizamento e brotações dos órgãos propagativos), o macro estágio 1 (brotação das folhas) e o macro estágio 2 (crescimento/desenvolvimento das folhas) (Tabela 3).

No macro estágio 0 foram definidas as médias das observações referentes ao enraizamento e brotações dos órgãos propagativos. O estágio inicial foi definido no momento em que os órgãos propagativos estavam em fase dormente, antes de serem transplantados ao campo, em 0 DAP. A partir desse momento, foi observado quando a média geral dos propágulos começaram seu intumescimento, o que ocorreu cerca de 3 DAP, e quando a maior parte deles não apresentavam mais variação em seu tamanho ou turgidez, marcando essa data como fim do intumescimento, o que ocorreu cerca de 7 DAP. As primeiras raízes e folhas produzidas por planta foram visíveis em média aos 11 DAP.

No macro estágio 1, aos primeiros 30 dias de desenvolvimento da cultura, as médias em DAP para o número de folhas visíveis foram tomadas como resultados. Pode-se observar que as plantas levam cerca de 30 dias para apresentar nove ou mais folhas visíveis. Vale ressaltar, que nessa etapa, foi contabilizado o número de folhas independente do tamanho e desenvolvimento de cada folha, da primeira até nove ou mais folhas visíveis, observadas em determinado tempo após o plantio (DAP).

Em se tratando do macro estágio 2, a cultura apresentou em média, 14 folhas comerciais aos 45 DAP, o que correspondeu a 11% do total das folhas, em tamanho comercial produzidas após a colheita. Aos 90 DAP, as plantas apresentaram em média 30 folhas em tamanho comercial, correspondendo a 24% da produção total de folhas. Em ocasião da colheita, realizada aos 140 DAP, foi constatado que as plantas produziram em média um total de 129 folhas, das quais 65 apresentaram tamanho comercial. Com isso, infere-se que a cultura apresentou após a colheita, cerca de 50% de suas folhas em tamanho considerado comercial.

Foi feita a análise de regressão para o número de folhas comerciais, apresentadas pela cultura em diferentes dias após o plantio (Tabela 4), por meio

do qual se obteve o seguinte modelo matemático:  $y = 0,42x$ ; onde  $y$  = número folhas comerciais e  $x$  = DAP.

### **3.3 Influência de diferentes espaçamentos e adubações na produção e nos caracteres biométricos da azedinha (*Rumex Acetosa* L.) – Experimento 3**

A produção total ( $\text{Mg.ha}^{-1}$ ) e o número de folhas por planta de azedinha (*Rumex acetosa* L.) variaram significativamente entre os diferentes tratamentos utilizados para espaçamento e adubação (Tabelas 5 e 6). Não houve interação significativa entre as classes de espaçamento e adubação para esses caracteres avaliados, e por isso, os dados referentes a cada densidade de plantio foram submetidos à análise de regressão de forma isolada (Tabela 7), visando relacionar as produções obtidas com os diferentes tratamentos de adubação, dentro de cada espaçamento.

As análises de regressão produziram os seguintes modelos matemáticos referentes aos índices produtivos de azedinha, conduzida com diferentes níveis de adubação em cada densidade de plantio: Espaçamento E1:  $y = 19,03x$ ; espaçamento E2:  $y = 22,02x$ . Em ambas as equações,  $y$  se refere à quantidade produzida e  $x$  à adubação formulada em cada tratamento (1, 2, 3 e 4) correspondendo aos formulados A1, A2, A3, e A4.

O espaçamento mais adensado (30 cm entre plantas X 35 cm entre linhas) apresentou a maior produção total, em média de  $57,40 \text{ Mg.ha}^{-1}$ , entretanto, menor produtividade e número de folhas por planta, correspondendo a 638 gramas e 194 folhas respectivamente, permitindo assim, inferir que cada folha apresentou peso médio de 3,29 gramas. O espaçamento menos adensado (35 cm entre plantas e 40 cm entre linhas), apresentou menor produção total, em média  $49 \text{ Mg.ha}^{-1}$ , entretanto, maior peso e número de folhas por planta, em média 700 gramas e 236 folhas respectivamente, permitindo assim, inferir que

cada folha apresentou peso médio de 2,97 gramas. A cultura da azedinha, quando conduzida em maior densidade de plantio (90.000 plantas.ha<sup>-1</sup>), resultou em maiores índices produtivos, embora em menor produtividade e número de folhas por planta, do que quando conduzida em uma menor densidade de plantio (70.000 plantas.ha<sup>-1</sup>).

Os índices produtivos variaram significativamente em relação aos diferentes níveis de adubação, respondendo de forma crescente, de acordo com os acréscimos dos nutrientes N, P e K por meio dos formulados. As testemunhas (A1), parcelas que não receberam adubo químico, apresentaram menor média produtiva, sendo de 25 Mg.ha<sup>-1</sup>. As plantas submetidas ao tratamento A2 (75 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 30 kg.ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O e 50 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) apresentaram média produtiva de 49 Mg.ha<sup>-1</sup>; e os índices produtivos médios das plantas aumentaram para os tratamentos que se seguiram: 65 Mg.ha<sup>-1</sup> referentes ao tratamento A3 (115 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 45 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 75 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e 75 Mg.ha<sup>-1</sup> em A4 (150 kg.ha<sup>-1</sup> de N; 60 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 100 kg.ha de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Os resultados indicam que a cultura da azedinha respondeu positivamente à adubação, dentro dos limites avaliados.

O número de folhas por planta, assim como os índices produtivos, também aumentou com o aumento das doses de NPK, sendo que a média mínima observada foi de 136 folhas por planta (referente ao tratamento A1), enquanto que a média máxima observada foi de 284 folhas (referente ao tratamento A4).

Após a colheita, as plantas apresentaram cerca de 70% de suas folhas em tamanho comercial (maiores que 10 cm de comprimento). O número de folhas não comerciais também foi aferido, visando elucidar a capacidade de regeneração das touceiras, baseada no número de folhas ainda não desenvolvidas completamente (< 10 cm de comprimento), onde se observou que cerca de 30 a 40% das folhas colhidas, ainda estavam em desenvolvimento.

As médias obtidas para os dados biométricos foram de 12,43 cm para comprimento da folha, 6,36 cm para a largura da folha e de 48,67 cm para a largura da touceira.

### **3.4 Influência de diferentes espaçamentos e adubações na produção e nos caracteres biométricos de *Stachys byzantina* K. Koch – Experimento 4**

Houve diferentes respostas produtivas para os tratamentos de diferentes níveis de adubo e densidades de plantio, sendo que a interação dos efeitos desses tratamentos foi significativa (Tabela 8), e por isso, foi obtido um modelo matemático geral, para ambas as densidades de plantio utilizadas (Tabela 10):  $y = 10x$ , onde  $y$  se refere à quantidade produzida e  $x$  à adubação formulada em cada tratamento (1, 2, 3 e 4) correspondendo aos formulados A1 (nenhum adubo químico), A2 (75 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 60 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 200 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), A3 (150 kg.ha<sup>-1</sup> de N; 120 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 400 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e A4 (300 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 240 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 800 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), utilizados em ambas as densidades de plantio adotadas.

Dentro das duas densidades de plantio utilizadas, os efeitos dos acréscimos dos nutrientes N, P e K, responderam em crescentes índices produtivos de peixinho, de acordo com o aumento das dosagens dos nutrientes nos formulados de A1 a A4. Em A1 produziu-se em média 10,12 Mg.ha<sup>-1</sup>; em A2, produziu-se em média 20,74 Mg.ha<sup>-1</sup>; em A3, produziu-se em média 20,44 Mg.ha<sup>-1</sup>; e em A4, produziu-se em média 48,05 Mg.ha<sup>-1</sup>.

Plantas sob o espaçamento menos adensado (E2), em geral produziram maior número de folhas (298) e de folhas comerciais (162), as quais se apresentaram em maior número, de acordo com os acréscimos dos nutrientes N, P, e K.

A resposta do número de folhas em desenvolvimento, também foi positiva ao acréscimo dos nutrientes N, P e K, e a densidade de plantio E2 também foi mais produtiva para este caractere. Plantas sob a densidade de plantio E2 produziram em média 136 folhas em desenvolvimento, enquanto que sob a densidade de plantio E1, as plantas produziram em média 66 folhas. Entretanto, mesmo apresentando menor produção por planta, em E1 a produção total por hectare foi similar ao observado em E2.

As médias dos resultados biométricos observados foram de 11,36 cm para o comprimento das folhas, e de 4,63 cm de largura das folhas.

#### 4 DISCUSSÕES

*Rumex acetosa* L. e *Stachys byzantina* K. Koch são consideradas hortaliças folhosas por apresentarem características similares às hortaliças convencionais, tal como porte herbáceo das plantas e um cultivo anual ou bianual, e também por demandarem um manejo de cultivo semelhante, de forma intensiva tal como os utilizados nos cultivos de alface (*Lactuca sativa* L.), rúcula (*Eruca sativa* Mill.), couve (*Brassica oleracea* L.), dentre outras. Entretanto, as maiores diferenças apresentadas por essas culturas, se comparadas às culturas de hortaliças convencionais, é de que, apesar da azedinha e do peixinho serem cultivadas como hortaliças anuais ou bianuais, são espécies perenes, embora o indicado seja realizar a renovação das culturas a cada seis meses, em consequência das respostas fenológicas destas espécies cultivadas sob o clima brasileiro (BRASIL, 2013). Vale ressaltar, que as caracterizações dos estádios fenológicos de ambas as culturas, foram realizadas levando-se em consideração que as espécies não florescem nas condições climáticas da região do sul de Minas Gerais, e de que, por isso, elas somente apresentaram sua fase de crescimento vegetativo, sendo propagadas por multiplicação vegetativa.

Comparando os ciclos produtivos definidos para as duas culturas estudadas (cerca de 100 DAP em azedinha e cerca de 140 DAP em peixinho), com os apresentados por culturas de hortaliças folhosas convencionais, tal como alface, almeirão, cebolinha, chicória e couve (início da colheita cerca de 70 a 100 DAP) (MALUF, 2006; AMARO et al., 2007), a azedinha apresentou demanda de tempo similar para se realizar a colheita, enquanto que o peixinho cerca de 40 dias a mais.

Com a finalidade de se cumprir os objetivos deste estudo, ambas as colheitas foram realizadas de forma única, colhendo-se todas as folhas das plantas. Observando os resultados do número de folhas comerciais e em

desenvolvimento apresentados após a colheita, foi possível notar que parte das folhas ainda se apresentava em desenvolvimento, em ambas as culturas, sendo cerca de 30% do total das folhas colhidas em azedinha e cerca de 50% do total das folhas colhidas em peixinho.

Atualmente, o mercado de hortaliças folhosas *baby* está em crescimento, caracterizando-se pelo comércio do produto, antes que ele complete seu desenvolvimento, inserindo assim, no comércio *in natura*, pequenas folhas (VASCONCELOS et al., 2011; CALORI et al., 2014). Caso a opção do agricultor seja colher toda a planta, as folhas menores poderiam ser comercializadas neste novo nicho de mercado. Outra opção seria realizar a colheita escalonada, deixando nas plantas as folhas menores, permitindo assim, que as touceiras se regenerassem, visando uma futura colheita. Entretanto, é clara a demanda de novos estudos, visando aferir os manejos de colheita e de pós-colheita mais apropriados para cada cultura.

Normalmente, em culturas de hortaliças folhosas, é grande a demanda por nutrição, e geralmente os índices produtivos dessas culturas variam de acordo com os níveis de adubação e densidades de plantio (RIBEIRO, 1999; RADIN et al., 2004; ZIECH et al., 2014). Em geral, os diferentes níveis de densidade de plantio e adubação utilizados, exibiram influências significativas nos índices produtivos de cada espécie. Os resultados indicam que ambas as culturas responderam de forma positiva ao acréscimo dos nutrientes N, P e K por meio da adubação, e indicam quais foram os tratamentos que melhor responderam para cada cultivo.

As espécies de hortaliças folhosas apresentam diferentes respostas produtivas quando conduzidas em diferentes manejos. Na cultura da alface, por exemplo, quando manejada em cultivo protegido, é esperado se produzir em média 56 Mg.ha<sup>-1</sup> (RIBEIRO, 1999), entretanto, quando cultivada em condições de manejo em campo, é esperado se produzir cerca de 20 Mg.ha<sup>-1</sup>, sendo que,

para cada tipo de cultivo, existe uma recomendação de adubação específica (RIBEIRO, 1999; ZIECH et al., 2014). Os maiores resultados produtivos obtidos com as culturas da azedinha e do peixinho, foram similares ao que se espera obter com a cultura da alface em cultivo protegido (RIBEIRO, 1999), entretanto, foram observados no cultivo em campo, demonstrando assim o grande potencial produtivo dessas espécies. Todavia, por estes estudos serem de caráter incipiente, visando estudar, principalmente o comportamento das culturas se adubadas ou não em diferentes níveis, são necessários estudos mais aprofundados, com objetivos de se avaliar as respostas produtivas em maiores escalas de variação, aferindo-se as influências dos níveis dos nutrientes, de forma isolada e em conjunto.

Sabe-se que por apresentarem grande capacidade de adaptação a diferentes ambientes, plantas com um mesmo genótipo podem apresentar pequenas diferenças biométricas e diferentes respostas produtivas quando conduzidas em diferentes condições de luminosidades, solos e ambientes em geral (RADIN et al., 2004; LIMA et al., 2013; SILVA, 2014; ZIECH et al., 2014). Entretanto, quando conduzidas sob um mesmo manejo com as mesmas condições ambientais, plantas de uma mesma variedade cultivada, normalmente respondem de forma similar ao ambiente, apresentando seus caracteres produtivos e biométricos similares, os quais são tomados como característicos (RADIN et al., 2004; FLUMIGNAN et al., 2008; MORAES et al., 2013).

Características biométricas como comprimento e largura das folhas, normalmente são úteis para a caracterização de diferentes espécies e cultivares (FILGUEIRA, 2006; FLUMIGNAN et al., 2008; BRASIL, 2013; MORAES et al., 2013; KINUPP; LORENZI, 2014). As plantas de *Rumex acetosa* L. apresentaram suas folhas glabras e sagitadas, com comprimento médio de 12,4 cm e largura média de 6,36 cm, produzidas em touceiras com largura média de 48,7 cm, enquanto que as plantas de *Stachys byzantina* K. Koch apresentaram

suas folhas lanceoladas, pilosas, com média de 11,36 cm de comprimento e de 4,63 cm de largura. Estes resultados caracterizam a biometria foliar das variedades estudadas.

## 5 CONCLUSÕES

Os índices produtivos de Azedinha (*Rumex acetosa* L.) e do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch), variaram significativamente quando as culturas foram implantadas em diferentes níveis de adubo e densidade de plantio.

Os melhores resultados produtivos obtidos com as culturas da azedinha e do peixinho foram de 75 e de 48,05 Mg.ha<sup>-1</sup> respectivamente.

A cultura da azedinha foi mais produtiva quando conduzida em espaçamento mais adensado, correspondendo a 30 cm entre plantas por 35 cm entre linhas, quando associada à adubação de 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N; 60 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 100 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

A cultura do peixinho foi mais produtiva quando conduzida em espaçamento menos adensado, de 50 cm entre plantas por 30 cm entre linhas, sob a adubação de 300 kg.ha<sup>-1</sup> de N, 240 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 800 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Os ciclos das culturas, do plantio a colheita, foram estabelecidos em 100 DAP para a cultura da azedinha e de cerca de 140 DAP para a cultura do peixinho.

## REFERÊNCIAS

- AMARO, G.B.; DA SILVA, D.; MARINHO, A.; NASCIMENTO, W. Recomendações técnicas para o cultivo de hortaliças em agricultura familiar. **Embrapa Hortaliças. Circular Técnica**, 2007.
- ASNAASHARI, S.; DELAZAR, A.; ALIPOUR, S. S.; NAHAR, L.; WILLIAMS, A.S.; PASDARAN, A.; MOJARAB, M.; AZAD, F.F.; SARKER, S. Chemical composition, free-radical-scavenging and insecticidal activities of the aerial parts of *Stachys byzantina*. **Archives of Biological Sciences**, v. 62, n. 3, p. 653-662, 2010.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. **Melhoramento de Plantas**. 5 ed. Viçosa: UFV, 2009. 529 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Hortaliças Não-Convencionais (Tradicionais)**. Brasília, 2010a: 54 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de hortaliças não-convencionais**. Brasília: MAPA, 2010b. 92 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de Hortaliças Não Convencionais**, Brasília: MAPA/ACS. 2013. 99 p.
- CALORI, A.H.; FACTOR, T.L.; LIMA JÚNIOR, S.D.; MORAES, L.A.S. D.; BARBOSA, P.J.R.; TIVELLI, S.W.; PURQUERIO, L.F.V. Condutividade elétrica da solução nutritiva e espaçamento entre plantas sobre a produção de beterraba e alface para baby leaf. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 4, 2014.
- ESTATCAMP. **Software Action**. Consultoria em estatística e qualidade. São Carlos, São Paulo, Brasil 2014.

FAO. **Women: users, preservers and managers of agrobiodiversity.** Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999. Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/x0171e/x0171e03.htm> >. Acesso em: 16 abr. 2015.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food and Nutrition in Numbers.** Rome, 2014. Disponível em: < <http://www.fao.org/publications/card/en/c/9f31999d-be2d-4f20-a645-a849dd84a03e/> >. Acesso em: 01 jun. 2015.

FERREIRA, A.M. **Métodos estatísticos e delineamento experimental.** Testes não paramétricos. p. 12, 2011. Disponível em: < [http://docentes.esa.ipcb.pt/mede/apontamentos/testes\\_ao\\_parametricos.pdf](http://docentes.esa.ipcb.pt/mede/apontamentos/testes_ao_parametricos.pdf) >. Acesso em: 01 jun. 2015.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura:** agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Universidade Federal de Viçosa: Empresa Júnior de Agronomia, 2006.

FLUMIGNAN, D.L.; ADAMI, M.; DE FARIA, R.T. Área foliar de folhas íntegras e danificadas de cafeeiro determinada por dimensões foliares e imagem digital. **Coffee Science**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2008. ISSN 1984-3909.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil:** guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 768

LADEJI, O.O., Z. S. C. . Chemical analysis of sorrel leaf (*Rumex acetosa*). **Food Chemistry**, v. 48, p. 205-206, 1993.

LANCASHIRE, P.D.; BLEIHOLDER, H.; BOOM, T.; LANGELÜDDEKE, P.; STAUSS, R.; WEBER, E.; WITZENBERGER, A. A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. **Annals of Applied Biology**, v. 119, n. 3, p. 561-601, 1991. ISSN 1744-7348.

LIMA, J.S.S. de; CHAVES, A.P.; NETO, F.B.; SANTOS, E.C.; DE OLIVEIRA, F.S. Produtividade da cenoura, coentro e rúcula em função de densidades populacionais. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 110-116, 2013. ISSN 1981-8203.

MALUF, W. **Produção escalonada de alface**: Lavras: UFLA. 8 p.(Material didático não publicado da disciplina FIT-154-Produção alface, brassicáceas e cucurbitáceas, do curso de Agronomia da Universidade Federal de Lavras 2006.

MORAES, L. de; SANTOS, R.K.; ZEIZER, T.W.; KRUPPEK, R.A. Avaliação da área foliar a partir de medidas lineares simples de cinco espécies vegetais sob diferentes condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 4, 2013. ISSN 1980-4849

RADIN, B.; REISSER JÚNIOR, C.; MATZENAUER, R.; BERGAMASCHI, H. Crescimento de cultivares de alface conduzidas em estufa e a campo. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 178-181, 2004.

RIBEIRO, A.C. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação**. Comissão de Fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, 1999.

SILVA, E.C.da ; CARLOS, L.D.A.; ARAÚJO, A.P.; FERRAZ, L.D.C.; PEDROSA, M.W.; SILVA, L.S. Characterization of two types of azedinha in the region of Sete Lagoas, Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 328-331, 2013. ISSN 0102-0536.

SILVA, J.R.P. da. **Diferentes fontes de adubos, espaçamento e qualidade da água de irrigação no cultivo e desenvolvimento da alface**. 2014. 17 p. TCC (Bacharelado em Agroecologia) – Universidade Estadual da Paraíba. 2014.

SILVA-JÚNIOR, A. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí: Epagri, 1997. v. 1.

SOUTO, A.A. **Process of obtainment of trans-resveratrol and/or emodin and nutraceutical compositions containing them**: Google Patents 2011.

VASCONCELOS, R.L.; FREITAS, M.D.P.N.; BRUNINI, M.A. Características físico-químicas da rúcula cv. cultivada produzida no sistema convencional e no baby leaf. **Nucleus**, v. 8, n. 2, 2011. ISSN 1982-2278.

ZIECH, A.R.; CONCEIÇÃO, P.C.; LUCHESE, A.V.; PAULUS, D.; ZIECH, M. Cultivo de alface em diferentes manejos de cobertura do solo e fontes de adubação. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 18, n. 9, p. 948-954, 2014.

## APÊNDICE

## TABELAS DAS ANÁLISES E RESULTADOS

Tabela 1 Estádios fenológicos da cultura da azedinha (*Rumex acetosa* L.).

<b>Estádio Fenológico</b>	<b>Definição</b>	<b>Média (DAP*)</b>	<b>Mediana</b>	<b>Moda</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>00</b>	Órgão de reprodução em fase dormente	0	0	0	0
<b>01</b>	Início intumescimento dos órgãos reprodutivos	3	3	3	0
<b>02</b>	Fim intumescimento dos órgãos reprodutivos	5	5	5	0
<b>03</b>	Crescimento/formação primeiras raízes laterais	7	7	7	0
<b>11</b>	Primeira folha visível	8	9	9	1,36
<b>12</b>	Segunda folha visível	10	9	11	1,47
<b>13</b>	Terceira folha visível	12	13	13	1,36
<b>14</b>	Quarta folha visível	14	15	13	1,58
<b>15</b>	Quinta folha visível	15	15	15	1,67
<b>16</b>	Sexta folha visível	17	17	15	2,18
<b>17</b>	Sétima folha visível	18	19	19	1,60
<b>18</b>	Oitava folha visível	21	21	19	2,85
<b>19</b>	Nove ou mais folhas visíveis	21	21	25	2,94
		<b>Média (Nº Folhas)</b>	<b>Mediana</b>		<b>Desvio Padrão</b>
<b>21</b>	Folhas em tamanho comercial (30 DAP)	35,04	35,00		6,11
<b>22</b>	Folhas em tamanho comercial (70 DAP)	70,60	68,00		14,75
<b>23</b>	Folhas em tamanho comercial (100 DAP)	105,08	105,00		20,16
<b>23</b>	Número total de folhas (100 DAP)	155	154		30,75

\* DAP = dias após o plantio.

Tabela 2 Regressão linear para número de folhas comerciais em dias após o plantio na cultura da azedinha (*Rumex acetosa* L.).

	<b>Coefficiente</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Significância e ajuste</b>
<b>Preditor (DAP)</b>	1,04	0,02	P-valor = 0,00
<b>Resíduos</b>	-	14,88	R <sup>2</sup> = 96%
<b>Modelo</b>	$y=1,04x$	-	-

Tabela 3 Estádios fenológicos da cultura do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch).

<b>Estádio Fenológico*</b>	<b>Definição</b>	<b>Média (DAP**)</b>	<b>Mediana</b>	<b>Moda</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>00</b>	Órgão de reprodução em fase dormente	0	0	0	0
<b>01</b>	Início intumescimento dos órgãos reprodutivos	3	3	3	0
<b>02</b>	Fim intumescimento dos órgãos reprodutivos	7	7	7	0
<b>03</b>	Crescimento/formação primeiras raízes laterais	11	11	11	0
<b>11</b>	Primeira folha visível	11	11	11	1,57
<b>12</b>	Segunda folha visível	13	13	13	1,34
<b>13</b>	Terceira folha visível	14	14	13	1,59
<b>14</b>	Quarta folha visível	16	15	15	1,53
<b>15</b>	Quinta folha visível	17	17	17	1,49
<b>16</b>	Sexta folha visível	18	19	17	1,79
<b>17</b>	Sétima folha visível	21	21	21	2,38
<b>18</b>	Oitava folha visível	25	25	25	1,96
<b>19</b>	Nove ou mais folhas visíveis	27	27	27	1,89
		<b>Média (Nº Folhas)</b>	<b>Mediana</b>		<b>Desvio Padrão</b>
<b>21</b>	Folhas em tamanho comercial (45 DAP)	14	15		3,56
<b>22</b>	Folhas em tamanho comercial (90 DAP)	30	29		7,10
<b>23</b>	Folhas em tamanho comercial (140 DAP)	65	65		13,41
<b>23</b>	Número total de folhas (140 DAP)	129	133		20,48

\* DAP = dias após o plantio.

Tabela 4 Regressão linear para número de folhas comerciais em dias após o plantio da cultura do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch).

	<b>Coefficiente</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Significância e ajuste</b>
<b>Preditor (DAP)</b>	0,42	0,01	p-valor = 0,00
<b>Resíduos</b>	-	10,87	R <sup>2</sup> = 94%
<b>Modelo</b>	$y=0,42x$	-	-

Tabela 5 Análise de variância para os níveis de produção obtidos nos diferentes tratamentos do experimento com azedinha (*Rumex acetosa* L.)

<b>Fator</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>P-valor</b>
<b>Bloco</b>	3	633,36	211,12	0,05
<b>Espaçamento</b>	1	547,71	547,71	0,02
<b>Erro 1</b>	3	69,35	23,12	-
<b>Adubação</b>	3	11423,49	3807,83	0,00
<b>EspaçamentoXAdubação</b>	3	195,06	65,02	0,12
<b>Erro 2</b>	18	517,18	28,73	-
<b>CV1 (%)</b>	9,03	-	-	-
<b>CV2 (%)</b>	10,06	-	-	-

Tabela 6 Resultados médios observados para a Influência de diferentes espaçamentos e adubações na produção e em caracteres biométricos da cultura da azedinha (*Rumex acetosa* L.).

<b>Tratamentos</b>	<b>Produção</b>	<b>Folhas/ planta</b>	<b>Folhas &gt; 10cm</b>	<b>Folhas &lt; 10cm</b>	<b>Comprimento folhas</b>	<b>Largura folhas</b>	<b>Largura Touceira</b>
	(Mg.ha <sup>-1</sup> )	(Número)	(Número)	(Número)	(cm)	(cm)	(cm)
<b>E1 (35 X 40)</b>	49,13	236	189,83	76,68	12,33	6,41	49,50
<b>E2 (30 X 35)</b>	57,40	194	165,87	76,47	12,53	6,31	45,73
<b>A1</b>	24,86	136	75,98	59,25	12,38	6,36	46,13
<b>A2</b>	48,63	190	179,86	77,76	12,31	6,18	46,28
<b>A3</b>	64,59	250	155,44	93,31	12,35	6,39	48,50
<b>A4</b>	74,98	284	204,08	75,98	12,68	6,53	49,56
<b>Média Geral</b>	53,26	215	138,02	76,58	12,43	6,36	48,67
<b>Mediana</b>	58,23	228,5	132,10	77,80	12,35	6,40	48,00
<b>D. Padrão</b>	20,78	66,68	60,32	31,77	0,74	0,35	5,46

Tabela 7 Regressões lineares dos índices produtivos de azedinha (*Rumex acetosa* L.) relacionados com os níveis de adubo dentro de cada densidade de plantio.

	<b>Coefficiente</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>P-valor/ajuste</b>
<b>Espaçamento 1:</b>			
Adubação	19,03	0,69	0,00
Resíduos	-	7,58	R <sup>2</sup> = 98%
<b>Modelo*</b>	$y=19,03x$	-	-
<b>Espaçamento 2:</b>			
Adubação	22,02	0,96	0,00
Resíduos	-	10,50	R <sup>2</sup> = 97%
<b>Modelo*</b>	$y=22,02x$	-	-

\* Sendo y o índice produtivo (t/ha) e x o nível de adubação utilizado (tratamentos 1, 2, 3 e 4).

Tabela 8 Análise de variância para os níveis de produção obtidos nos diferentes tratamentos do experimento com peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch)

<b>Fator</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>P-valor</b>
<b>Bloco</b>	3	1,056798	1,018584352	0,3262
<b>Espaçamento</b>	1	1,004725	1,004724517	0,5496
<b>Erro 1</b>	3	1,031799	1,010489953	-
<b>Adubação</b>	3	69,97163	4,120728487	0,000
<b>EspaçamentoXAdubação</b>	3	1,071238	1,02320346	0,0172
<b>Erro 2</b>	18	1,098249	1,00521972	-
<b>CV1 (%)</b>	5,08	-	-	-
<b>CV2 (%)</b>	3,59	-	-	-

Tabela 9 Resultados médios observados para a Influência de diferentes espaçamentos e adubações na produção e em caracteres biométricos da cultura do peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch).

Tratamentos	Produção	Folhas por planta	Folhas > 8cm	Folhas < 8cm	Comprimento folhas	Largura folhas
	Mg.ha <sup>-1</sup>	(número)	(número)	(número)	cm	cm
<b>E1 (20 X 25)</b>	25,01	131	65	66	11,46	4,60
<b>E2 (50 X 30)</b>	24,66	298	162	136	10,98	4,66
<b>A1</b>	10,12	120	68	52	11,43	4,23
<b>A2</b>	20,74	224	122	101	11,15	4,86
<b>A3</b>	20,44	191	102	89	10,65	4,53
<b>A4</b>	48,05	324	162	163	11,65	4,89
<b>Média geral</b>	24,84	215	113	101	11,36	4,63
<b>Mediana</b>	20,81	193	94	80	11,35	4,75
<b>Desvio Padrão</b>	14,82	119	66	63	0,86	0,51

Tabela 10 Regressão linear dos índices produtivos de peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch) relacionados com os níveis utilizados de adubo.

	Coefficiente	Desvio Padrão	P-valor/ajuste
<b>Espaçamentos 1 e 2:</b>			
Adubação	10,08	1,29	0,00
Resíduos	-	7,07	R <sup>2</sup> = 95%
<b>Modelo*</b>	$y=10x$	-	-

\*Sendo y equivalente à produção (t/ha) e x ao nível de adubo utilizado (tratamentos 1, 2, 3 e 4)