



MARIA DE FÁTIMA SANTOS

**POTENCIAIS ALELOPÁTICOS E
ANTIOXIDANTE DE *Portulaca oleracea* L. E
Raphanus raphanistrum L.**

LAVRAS – MG

2016

MARIA DE FÁTIMA SANTOS

POTENCIAIS ALELOPÁTICOS E ANTIOXIDANTE DE *Portulaca oleracea* L. E *Raphanus raphanistrum* L.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *stricto Sensu* em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, área de Bioatividade de Plantas Medicinais, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Prof. Dr. Adenilson Henrique Gonçalves

Coorientadora

Prof.^a Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

LAVRAS - MG

2016

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

Santos, Maria de Fátima.

Potenciais alelopáticos e antioxidante de *Portulaca oleracea* L
e *Raphanus raphanistrum* L / Maria de Fátima Santos. – Lavras :
UFLA, 2016.

111p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2016.

Orientador(a): Adenilson Henrique Gonçalves.

Bibliografia.

1. Radicais livres. 2. Bioensaio vegetal. 3. Aleloquímico. 4.
Nabiça. 5. Beldroega. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

Maria de Fátima Santos

**POTENCIAIS ALELOPÁTICOS E ANTIOXIDANTE DE *Portulaca*
oleracea L. E *Raphanus raphanistrum* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *stricto Sensu* em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, área de Bioatividade de Plantas Medicinais, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 29 de março de 2016

Prof. Dr. Pascoal Jose Gaspar Júnior UNIFOR - MG

Prof^ª. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci UFLA

Prof. Dr. Adenilson Henrique Gonçalves UFLA

Prof. Dr. Adenilson Henrique Gonçalves
Orientador

Prof^ª. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci
Coorientadora

LAVRAS-MG

2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus por ter me concedido a graça de concluir esta etapa tão importante da minha vida.

Aos meus pais, João Manoel e Maria Aparecida pela vida, dedicação, amor e apoio incondicionais e por serem meu admirável exemplo de vida a seguir. À minha irmã e ao meu cunhado pelo companheirismo, pelas palavras de amizade e por estarem sempre ao meu lado.

Ao meu sobrinho João Vitor por me dar forças para conseguir alcançar todos os meus objetivos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adenilson Henrique Gonçalves e coorientadora Prof^ª. Dr^ª. Suzan Kelly Vilela Bertolucci pela oportunidade, orientação e apoio na elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos Lucas, Dayana, Ana Paula e Quênia pelo companheirismo, amizade nesta caminhada.

Aos amigos do Nemas/Neptron, pelo incentivo e apoio constante.

A Guília, Anete, Luiz, Evaldo, Paulinho e Dico pela ajuda e atenção durante toda a minha caminhada.

A Universidade Federal de Lavras e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade e o apoio financeiro.

Aos amigos das Republicas 201 e 301 por me proporcionarem momentos inesquecíveis e se tornarem minha família em Lavras.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma me ajudaram a concluir a etapa final dessa longa caminhada.

RESUMO GERAL

Este trabalho objetivou-se avaliar o potencial alelopático de diferentes extratos obtidos das folhas secas de *Portulaca oleracea* (beldroega) e *Raphanus raphanistrum* (nabiça). Os extratos foram preparados por refluxo em água ultrapura e maceração dinâmica utilizando solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura). Os extratos obtidos foram filtrados e evaporados sob vácuo, em seguida foram realizados os cálculos dos rendimentos extrativos e os ensaios de quantificação de fenólicos totais (fenóis, flavonoides e dihidroflavonoides) e potencial antioxidante (poder redutor, capacidade antioxidante total, poder quelante e sequestro de radicais livres DPPH). As correlações dos métodos de quantificação e antioxidante foram obtidas através da análise de correlação canônica. Para os testes de alelopatia os extratos foram ressuspensos em água ultrapura, medido pH e diluídos de modo a obter-se quatro concentrações (2, 4, 6, 8 g.L⁻¹). Nos bioensaios de germinação foram utilizadas 25 sementes de *Lactuca sativa* (alface), sendo umedecidas com 4 mL dos extratos e mantidas em estufa tipo BOD com temperatura a 24°C e fotoperíodo de 12 horas, onde foram avaliados o índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, crescimento radicular e hipocótilo. Independente dos métodos extrativos, os extratos aquosos foram os que apresentaram maior rendimento para ambas as plantas. Dos extratos obtidos, somente o extrato hexânico não demonstrou resultados significativos nos ensaios de quantificação e antioxidante. No teste do poder quelante os extratos aquosos da nabiça apresentaram melhor atividade de quelação do Fe⁺² (0,002±0,0 mg/mL). Na beldroega o extrato butanólico apresentou um elevado efeito antioxidante no ensaio do poder redutor comparado com o ácido ascórbico. Ambas as espécies apresentaram uma alta correlação entre a quantificação de compostos fenólicos e os métodos antioxidantes. No teste de alelopatia os extratos aquosos obtidos por maceração e refluxo da nabiça apresentaram efeito alelopático a partir das menores concentrações, sendo que, no extrato aquoso por maceração na maior concentração (10 g.L⁻¹) inibiu total a germinação das sementes de alface. Os extratos obtidos a partir dos solventes diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura influenciaram no desenvolvimento das plântulas da espécie teste, na qual o extrato aquoso foi capaz de inibir mais de 50% o crescimento da radicular. Na beldroega, os extratos aquosos obtidos por refluxo e maceração foram os que apresentaram atividade em todos os testes analisados, porém o extrato obtido pelo método de maceração foi o que demonstrou melhor resultado, inibindo totalmente a germinação nas concentrações de 8 e 10 g.L⁻¹. Dos extratos com polaridade crescente somente o diclorometano não afetou o desenvolvimento da alface. Os resultados deste trabalho indicaram o potencial

alelopático e antioxidante da beldroega e da nabiça em ensaios realizados em *in vitro*.

Palavra chave: Radicais livres. Bioensaio vegetal. Aleloquímico. Nabiça. Beldroega.

GENERAL ABSTRACT

This work aimed to evaluate the allelopathic potential, antioxidant and quantification of total phenolic compounds of different extracts from the dried leaves of *Portulaca oleracea* (purslane) and *Raphanus raphanistrum* (turnip). The extracts were prepared by refluxing in ultrapure water and dynamic maceration used increasingly polar solvents (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, butanol and ultrapure water). The extracts were filtered and evaporation in vacuum then were performed calculations of extractives yields and quantification of total phenolic assays (phenols, flavonoids and dihydroflavonoides) and antioxidant potential (reducing power, total antioxidant capacity, chelating power and sequestration DPPH free radicals). Correlations of quantification methods and antioxidant were obtained by canonical correlation analysis. To test allelopathy extracts were resuspended in ultrapure water, pH measured and diluted so as to obtain four concentrations (2, 4, 6, 8 g.L⁻¹). In germination bioassays were used 25 seeds of *Lactuca sativa* (lettuce) and wetted with 4 mL of the extracts and kept in an incubator BOD with temperature at 24 °C and photoperiod of 12 hours were evaluated in the germination speed index (GSI), germination percentage (%G), dry mass, root and hypocotyl growth. Regardless of extractive methods, the aqueous extracts showed the highest yield for both plants. The extracts, only the hexane extract showed no significant results in quantitation assays and antioxidant. In the test of the chelating power aqueous extracts of turnip showed better chelation activity of Fe⁺² (0.002 ± 0.0 mg / mL). In the butanolic purslane extract showed a high antioxidant effects in the test of reducing power compared to ascorbic acid. Both species have a high correlation between the quantification of phenolic compounds and antioxidant methods. In allelopathy test aqueous extracts obtained by maceration and flow of turnip showed allelopathic effect from lower concentrations, and in the aqueous extract by steeping in the highest concentration (10 g.L⁻¹) inhibited the total germination of lettuce seeds. The extracts obtained from the dichloromethane solvent, ethyl acetate, butanol and ultrapure water influenced the development of the seedlings of the test species, wherein the aqueous extract was able to inhibit more than 50% of root growth. In purslane, the aqueous extracts obtained by reflux and maceration showed the activity in all analyzed tests, but the extract obtained by maceration method was the one that demonstrated best results, completely inhibiting germination at concentrations of 8:10 g L⁻¹. Extracts with increasing polarities only dichloromethane did not affect the development of lettuce. The results of this study indicated the allelopathic and antioxidant potential of purslane and turnip in trials in vitro.

Keyword: Free radicals. Plant bioassay. Allelochemical. Turnip. Purslane.

LISTAS DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1	Diagrama do mecanismo de interferência das plantas (competição e alelopatia).....	19
Figura 2	Relação entre compostos químicos e fatores ambientais sobre o crescimento de uma planta.....	22
Figura 3	Estresse oxidativo e seus possíveis danos à saúde humana.....	24
Figura 4	Reação química entre o antioxidante BHT e o radical DPPH•.....	27
Figura 5	Reação do composto fenólico (ácido gálico) com molibdênio.....	28
Figura 6	Espécie <i>Portulaca oleracea</i>	31
Figura 7	Características morfológica da flor, vagem e sementes de <i>P. oleracea</i>	32
Figura 8	Estruturas químicas de alguns compostos encontrados em <i>Portulaca oleracea</i>	34
Figura 9	Ciclo de vida da <i>Portulaca oleracea</i>	35
Figura 10	Características morfológicas da nabiça. (A) Planta; (B) Vagem; (C) Semente; (D) Vagem inflada.....	37
Figura 11	Flores de <i>R. raphanistrum</i> L.....	37
Figura 12	Forma da siliquis de <i>R. sativus</i> (a) e de <i>R. raphanistrum</i> (b e c).....	38
Figura 13	Compostos tóxicos normalmente produzidos durante a quebra dos glicosinolatos por mirosinase.....	40

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Figura 1	Fluxograma sucinto do processo de obtenção dos extratos de <i>P.oleracea</i> e <i>R. raphanistrum</i>	56
----------	---	----

ARTIGO 2

Figura 1	Fluxograma de obtenção dos extratos de <i>R. raphanistrum</i>	84
----------	---	----

ARTIGO 3

Figura 1	Fluxograma de obtenção dos extratos de <i>P. oleracea</i>	101
----------	---	-----

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

Tabela 1	Rendimento dos extratos de <i>P. oleracea</i> e <i>R. raphanistrum</i>	63
Tabela 2	Teores de compostos fenólicos nos extratos das folhas seca de <i>P. oleracea</i>	64
Tabela 3	Teores de compostos fenólicos nos extratos das folhas seca de <i>R. raphanistrum</i>	64
Tabela 4	Potencial antioxidante de <i>P. oleracea</i>	66
Tabela 5	Potencial antioxidante de <i>R. raphanistrum</i>	67
Tabela 6	Teste F sequencial.....	70
Tabela 7	Resultados das correlações canônicas.....	71
Tabela 8	Teste F sequencial.....	72
Tabela 9	Resultados das correlações canônicas.....	72
Gráfico 1	Poder redutor dos extratos de <i>P. oleracea</i>	69
Gráfico 2	2 Poder redutor dos extratos de <i>R. raphanistrum</i>	69
Gráfico 3	Análise multivariada de dados recorrendo aos métodos de análise das variáveis canônicas de <i>P. oleracea</i>	71
Gráfico 4	Análise multivariada de dados recorrendo aos métodos de análise das variáveis canônicas de <i>R. raphanistrum</i>	73

ARTIGO 2

Tabela 1	Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, comprimento do hipocótilo e da radicular de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações de extratos aquosos de <i>Raphanus raphanistrum</i>	87
Tabela 2	Índice de velocidade de germinação (IVG), Porcentagem de germinação (%G), massa seca, comprimento do hipocótilo e da radicular de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações de extratos com polaridade crescente.....	89
Tabela 3	Valores de pH dos extratos da folha de nabiça utilizados nos bioensaios de germinação e crescimento de plântulas de alface.....	91

ARTIGO 3

Tabela 1	Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, comprimento do hipocótilo e da radicular de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações de extratos aquosos de <i>Portulaca oleracea</i>	103
Tabela 2	Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, comprimento do hipocótilo e da radicular de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas a diferentes concentrações de extratos com polaridades crescentes.....	106
Tabela 3	Valores de pH dos extratos da folha de beldroega utilizados nos bioensaios de germinação e crescimento de plântulas de alface.....	108

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO GERAL	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	ALELOPATIA	18
3.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	24
3.3	<i>Portulaca oleracea</i> L.....	30
3.3.1	Aspectos botânicos.....	30
3.3.2	Uso.....	32
3.3.3	Fitoquímica.....	33
3.3.4	Aspectos agronômicos.....	35
3.4	<i>Raphanus raphanistrum</i> L.....	36
3.4.1	Aspectos botânicos.....	36
3.4.2	Uso.....	38
3.4.3	Fitoquímica.....	39
3.4.4	Aspectos agronômicos.....	40
	REFERÊNCIAS	41
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	
	ARTIGO 1 POTENCIAL ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DE <i>Portulaca oleracea</i> E <i>Raphanus raphanistrum</i>	51
1	INTRODUÇÃO	54
2	MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1	Obtenção dos extratos.....	56
2.2	Reagentes e Espectrofotômetro.....	57
2.3	Quantificação de compostos fenólicos.....	57
2.3.1	Determinação dos fenóis totais.....	57
2.3.2	Quantificação de flavonoides (flavonas e flavonóis totais).....	58
2.3.3	Quantificação dos dihidroflavonoides (flavonanois e flavanonas).....	58
2.4	Ensaio do potencial antioxidantes.....	59
2.4.1	A atividade da captura de radicais livres por DPPH.....	59
2.4.2	Determinação do poder quelante.....	60
2.4.3	Capacidade antioxidante total (CAT).....	61

2.4.4	Poder redutor.....	61
2.5	Análise Estatística.....	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4	CONCLUSÃO.....	74
	REFERÊNCIAS.....	75
	ARTIGO 2 EFEITO ALELOPÁTICO IN VITRO DE NABIÇA (<i>Raphanus raphanistrum</i> L.) SOBRE A ALFACE.....	79
1	INTRODUÇÃO.....	82
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	83
2.1	Material vegetal.....	83
2.2	Obtenção dos extratos.....	84
2.3	Bioensaio de germinação.....	85
2.4	Análise Estatística.....	85
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	86
4	CONCLUSÃO.....	91
	REFERÊNCIAS.....	92
	ARTIGO 3 POTENCIAL ALELOPÁTICO DE BELDROEGA (<i>Portulaca oleracea</i> LINN) EM ALFACE.....	95
1	INTRODUÇÃO.....	98
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	99
2.1	Material vegetal.....	99
2.2	Obtenção dos extratos.....	100
2.3	Bioensaio de germinação.....	101
2.4	Análise Estatística.....	102
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	102
4	CONCLUSÃO.....	108
	REFERÊNCIAS.....	109

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

As plantas possuem a capacidade de liberar no meio ambiente diversos metabólitos secundários, podendo interferir de forma positiva ou negativa no desenvolvimento da vegetação que está ao seu redor. Este fenômeno de interferência é conhecido como alelopatia. Existem vários compostos químicos (aleloquímicos) com este tipo de atividade, como os compostos fenólicos, flavonoides, saponina, taninos, ácidos orgânicos, antraquinonas e naftoquinas (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2005; SILVA et al., 2011).

Os compostos químicos podem variar de acordo com a composição, concentração e a distribuição na planta. Estes aleloquímicos podem ser liberados para o meio ambiente de diversas maneiras, como por meio da decomposição de resíduos vegetais, exsudação pelas raízes, volatilização e lixiviação da superfície das folhas através da chuva e/ou neblina (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2005).

Os estudos envolvendo a atividade alelopática das plantas são de grande interesse para a agricultura, pois, muitas das substâncias químicas apresentam grande potencial para o uso no controle de plantas daninhas e ainda, possuem a capacidade de inibir a germinação e o crescimento vegetal (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2005), além de ser uma técnica barata, não poluente e não requerer equipamentos sofisticados para sua aplicação (CARVALHO et al., 2012).

Para avaliar a atividade alelopática dos compostos químicos *in vitro* são realizados bioensaios com plantas testes, tais como as sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.). Estas espécies são utilizadas devido à sensibilidade ao contato com

os aleloquímicos, insensibilidade aos potenciais osmóticos, fácil aquisição, manuseio, germinação rápida e crescimento linear (FORMAGIO et al., 2014; SILVA et al., 2011).

Além da atividade alelopática, as plantas podem apresentar um forte potencial antioxidante. Os antioxidantes são compostos que possuem a capacidade de desacelerar o processo de oxidação, através da inibição de radicais livres e complexação de metais. Para a sobrevivência dos vegetais várias substâncias antioxidantes são produzidas para a captura dos radicais livres tais como os flavonoides e compostos fenólicos (BARBOSA et al., 2014; FORMAGIO et al., 2014).

Portulaca oleracea L. é uma espécie considerada daninha, com hábito de crescimento herbáceo, cosmopolita que se adapta a vários tipos de clima. Conhecida como beldroega é utilizada na alimentação humana. Para esta espécie são também relatadas atividades medicinais como vermífuga, antibacteriana, analgésica, anti-inflamatória, diurética, antipirética, emoliente, relaxante muscular e na alelopatia (AGARWAL; VARMA, 2015; LORENZI; MATOS, 2002; SHEHATA, 2014).

Outra planta considerada daninha é *Raphanus raphanistrum* L. popularmente conhecida como nabiça. É uma espécie anual, herbácea encontrada em grande escala no sul do Brasil, muito semelhante morfológicamente a *Raphanus sativa* (nabo silvestre) (LORENZI, 1991). As folhas são utilizadas na alimentação humana no México, Itália, Paquistão e Turquia. Na Inglaterra as sementes têm sido empregadas como um substituto para a mostarda. As folhas desta espécie são usadas como anti-reumáticas, anti-inflamatórias, antioxidantes e na alelopatia (KÜÇÜKBOYACI et al., 2012; WANDSCHEER; PASTORINI, 2008; WARWICK; FRANCIS, 2005).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo avaliar potencial alelopático e antioxidante das espécies *Portulaca oleracea* L e *Raphanus raphanistrum* L.

2 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial alelopática e antioxidante de diferentes extratos das folhas secas de *Portulaca oleracea* e *Raphanus raphanistrum*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ALELOPATIA

O termo alelopatia foi descrita pelo pesquisador Molisch em 1937, onde a palavra derivada do grego significa *allelon* (mútuo) e *pathós* (prejuízo ou sofrer) (FERREIRA; AQUILA, 2000). Alelopatia é a ciência que estuda qualquer processo envolvendo metabólitos com atividade alelopática produzida por plantas, algas, bactérias e fungos, que liberados no meio ambiente podem influenciar diretamente ou indiretamente, a sobrevivência das plantas que estão ao seu redor (PINTO et al., 2002). De maneira indireta, estes compostos químicos liberados tanto na fase aquosa quanto gasosa, podem influenciar na nutrição do solo e das plantas que nele habitam. Seu efeito direto provoca alterações no nível celular e metabólico (BORELLA et al., 2009; FERREIRA; AQUILA, 2000).

O potencial alelopático pode ser dividido em auto toxicidade que ocorre quando uma planta libera no ambiente substâncias químicas que vão interferir na germinação e desenvolvimento da sua espécie e heterotoxicidade é quando a substância liberada vai afetar o desenvolvimento de outra espécie (PIRES; OLIVEIRA, 2011).

As substâncias químicas podem ser liberadas para o meio ambiente de várias maneiras, sabendo que fatores abióticos podem influenciar no processo de liberação. Esta rota inclui a decomposição de resíduos vegetais, sendo considerada a mais importante neste processo. Também pode ser citada a exsudação por raízes, a volatilização que ocorre através das folhas e o processo de lixiviação das superfícies foliares pela chuva e/ou neblina (CARVALHO et al., 2014; MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2005).

Observa-se que, o fenômeno da alelopatia é o oposto da competição. Competição acontece quando uma planta retira do ambiente substâncias essenciais (luz, água, nutriente etc.) suprimindo o crescimento de outro vegetal, já a alelopatia ocorre a partir da liberação de aleloquímicos no habitat (Figura 1) (CHOU, 2016).

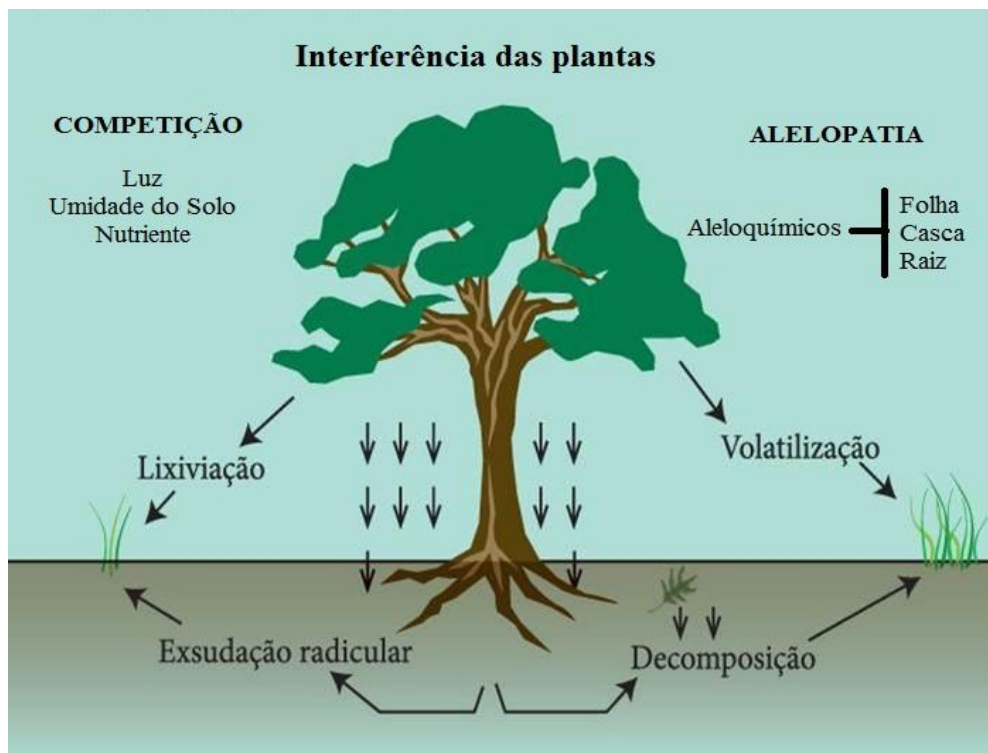


Figura 1 Diagrama do mecanismo de interferência das plantas (competição e alelopatia)

Fonte Adaptado de Chou (2016)

Plantas que possuem atividade alelopática, tem chamado bastante atenção devido as suas aplicações no meio agrícola, onde são utilizadas como alternativa no uso de inseticidas, herbicidas e nematicidas, sendo um método barato, não poluente e não necessita de equipamentos sofisticados para a aplicação (CARVALHO et al., 2012; FERREIRA; AQUILA, 2000). Por ser um

método natural, a alelopatia pode ser utilizada juntamente com outras técnicas de controle agrícola sem provocar contaminações ao solo e água, pois seus resíduos se degradam rapidamente comparado com resíduos sintéticos (OLIVEIRA et al., 2015).

Os compostos que possuem potencial alelopático provém dos metabólitos secundários, que na evolução das plantas, representaram alguma vantagem contra o ataque de microrganismos, vírus, insetos e predadores. São conhecidos atualmente cerca de 10.000 produtos de metabólitos essenciais que apresentam ação sobre outras plantas. Sendo sua principal função a de proteção ou defesa contra o ataque de pragas e fitopatógenos. Dentre os compostos com atividade alelopática estão os taninos, cumarinas, glicosídeos cianogênicos, alcaloides, flavonoides e outros (PIRES; OLIVEIRA, 2011). Os metabólitos com atividades alelopáticas (aleloquímicos) podem influenciar no crescimento da plântula, podendo também afetar a estrutura citológica, hormonal, permeabilidade da membrana, absorção de minerais, fotossíntese, atividade enzimática, relações hídricas, alteração no DNA e RNA, movimento realizado pelos estômatos e na síntese de proteínas (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Os monoterpenos, quinonas e flavonoides possuem a capacidade de interferir com as funções das mitocôndrias (PIRES; OLIVEIRA, 2011). A classe de compostos fenólicos apresenta uma gama de compostos com atividade alelopática, variando de fenóis simples a taninos de estruturas mais complexa (TAVEIRA; SILVA; LOIOLA, 2013). Eles estão relacionados à divisão celular, atividade hormonal, teor de clorofila e absorção de água (LAYNEZ-GARSABALL; MENDEZ-NATERA, 2006). As saponinas diminuem a permeabilidade de oxigênio no tegumento da semente; uma variedade de taninos inibe a ação das giberelinas (LAYNEZ-GARSABALL; MENDEZ-NATERA, 2006; SOUZA FILHO; ALVES, 2002).

A cumarina altera a taxa de respiração, inibe a fotossíntese, absorção de íons e a síntese de proteína, além de reduzir o teor de água no tecido. Escopoletina, ácido p-cumárico e ácido caféico também afetam o processo fotossintético provocando o fechamento dos estômatos (EINHELLIG; RASMISSEN, 1979). Os alcaloides podem atuar como substâncias de defesa contra insetos herbívoros, hormônios reguladores de crescimento e apresentam a capacidade de inibir a germinação (GOETZE; THOME, 2004; SOUZA FILHO; TREZZI; INOUE, 2011).

Os compostos químicos podem se relacionar aos processos fisiológicos da planta receptora, agindo como inibidores da germinação e do crescimento ou podem atuar também como promotores do crescimento, isto pode ocorrer em determinadas concentrações, muitas vezes a atividade alelopática não é sobre germinação e sim sobre a velocidade de germinação (FERREIRA; AQUILA, 2000; GATTI; PEREZ; LIMA, 2004).

As condições ambientais como temperaturas extremas, deficiências nutricionais, umidade, excesso ou falta de luz, insetos, doenças e os agrotóxicos podem influenciar na produção de substâncias químicas liberadas pelas plantas. Estas condições de estresse frequentemente aumentam a produção de metabólitos secundários, proporcionando o aumento de interferência alelopática (Figura 2) (GOLDFARB; PIMENTEL; PIMENTEL, 2009).

Para identificar em laboratório se o extrato vegetal possui atividade alelopática, são observados, nos bioensaios vegetais, a porcentagem de germinação, comprimento total da plântula, comprimento radicular, número e comprimento de raízes adventícias e secundárias, números de nós e o comprimento dos internós (MIRÓ; FERREIRA; AQUILA, 1998). O bioensaio de germinação é conduzido em câmaras de germinação, com temperatura e luminosidade controlada normalmente entre 7 a 10 dias (SOUZA FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010).

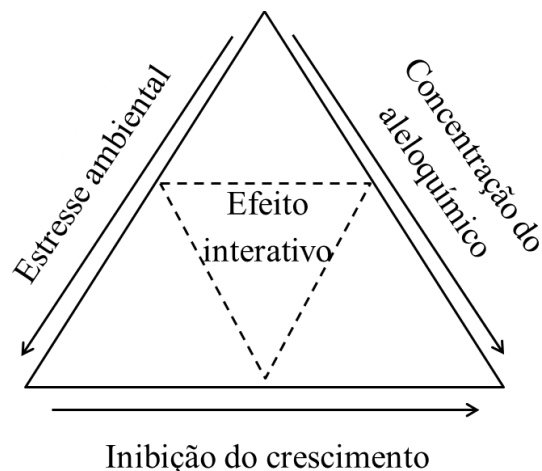


Figura 2 Relação entre compostos químicos e fatores ambientais sobre o crescimento de uma planta

Fonte Pires e Oliveira (2011)

Para os bioensaios vegetais, onde os principais pontos avaliados são a germinação e o desenvolvimento da plântula, utiliza-se como planta teste sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.), devido a sua sensibilidade ao contato com os aleloquímicos, insensibilidade ao potencial osmótico, fácil aquisição, manuseio, germinação rápida e crescimento linear (FORMAGIO et al., 2014; SARTOR et al., 2015; SILVA et al., 2011).

O crescimento radicular é um parâmetro muito empregado para a identificação dos efeitos alelopáticos, pois ocorre à inibição ou retardo do crescimento e desenvolvimento em contato com o aleloquímico. Quando o crescimento das raízes é prejudicado, isso pode ocasionar danos ao ciclo de vida da planta, pois ela necessita fixar-se ao solo e absorver água e nutrientes. Sem o sistema radicular íntegro isto não ocorre (OLIVEIRA et al., 2015).

Existem vários trabalhos científicos que demonstram a atividade alelopática e a eficiência dos bioensaios vegetais, tais como, o extrato aquoso da parte aérea de braquiária (*Brachiaria brizantha*), girassol (*Helianthus annuus*) e soja (*Sorghum bicolor*) influenciaram na diminuição do crescimento radicular da alface (OLIVEIRA et al., 2015); fungos *Fusarium solani* e *Diplodia maydis* interferiram no desenvolvimento da buva e amendoim-bravo sem afetarem outras cultivares (milho e soja) (SPIASSI et al., 2015); o extrato aquoso de acículas do pinheiro-amarelo (*Pinus taeda*) afetou a germinação, crescimento (epicótilo e raízes) e a velocidade de germinação do milho (*Zea mays*), picão preto (*Bidens pilosa*) e alface (SARTOR et al., 2015); os extratos metanólicos de *Hibiscus sabdariffa* (hibisco), *Ocimum gratissimum* (alfavaca) e *Palicourea crocea* inibiram o crescimento de plântulas de alface (FORMAGIO et al., 2014); os óleos essenciais de *Cinnamomum Zeylanicum* (canela), *Lippia sidoides* (alecrim pimenta) e *Cymbopogon nardus* (citronela) interferiram na germinação e crescimento radicular de picão preto (ALVES et al., 2014); extrato aquoso da folhas de *Mikania cordata* (guaco) inibiram a germinação e desenvolvimento de *Oryza sativa* (arroz), *Triticum aestivum* (trigo), *Vigna sinensis* (feijão-miúdo), *Abelmoschus esculentus* (quiabo), *Amaranthus tricolor* (breço), *Acacia auriculiformis* (acácia auriculada), e *Paraserianthes falcataria* (albizia) (HOSSAIN; ANWAR; NANDI, 2016); o óleo essencial de *Thymus algeriensis* inibiu o crescimento e parte aérea de alfafa (*Medicago sativa*) e trigo (ALI et al., 2015) e o óleo essencial de *Cullen plicata* apresentou atividade alelopática sobre picão preto e leituga-amargosa (*Urospermum picroides*) (EL-GAWAD, 2016).

3.2 Atividade Antioxidante

O oxigênio (O_2) é uma molécula muito importante para os seres aeróbicos, pois desempenha os processos bioquímicos da respiração celular, mas por outro lado também leva ao desequilíbrio nestas reações produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs) ou radicais livres (BARBOSA et al., 2014).

Os radicais livres são moléculas cujos elétrons encontram-se desemparelhados e centrados nos átomos de oxigênio ou nitrogênio. O desequilíbrio entre a formação e a remoção das EROs é conhecida como estresse oxidativo, sendo ocasionado por uma série de fatores, como os apresentados na Figura 3 (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

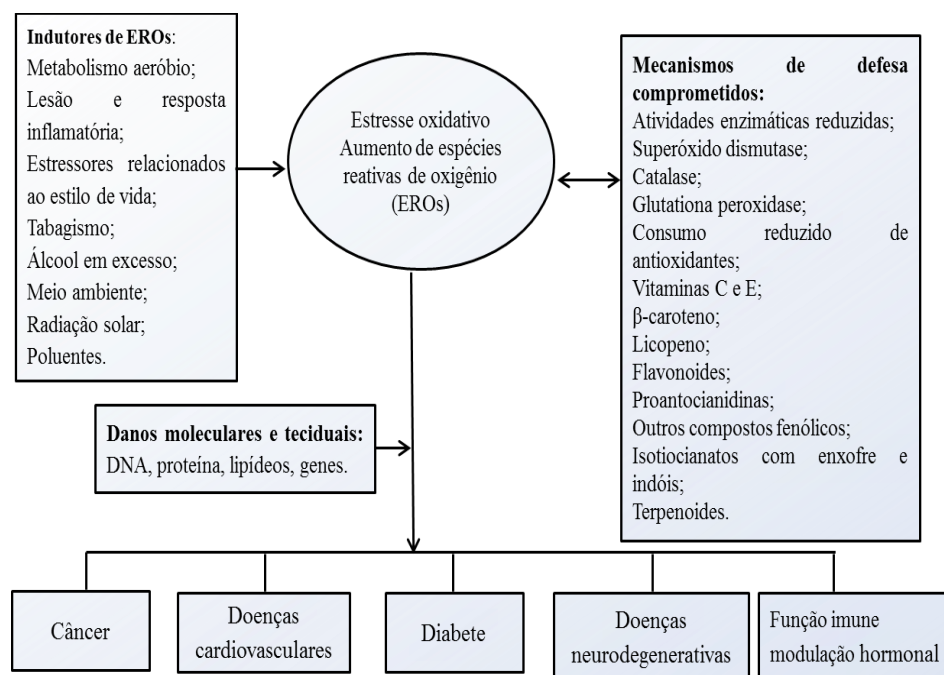


Figura 3 Estresse oxidativo e seus possíveis danos à saúde humana

Fonte Damodaran, Parkin e Fennema (2010)

Existem vários EROs que danificam a estrutura celular, sendo, o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) uma EROs instável, pois apresenta número ímpar de elétrons

na última camada eletrônica. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um radical livre moderadamente reativo, por ser de pequeno porte tem a capacidade de atravessar membranas celulares (por exemplo, membranas nucleares) e apresenta ação deletéria, pois participa da reação que origina o radical hidroxila (HO^\bullet). Nas plantas o H_2O_2 é formado pela fotorrespiração, peroxissomos, mitocôndrias, cloroplastos, citosol e membrana plasmática. A HO^\bullet é o radical mais oxidante dentro dos EROs, ele pode ocasionar inativação ou mutação no DNA, desnaturar pontes dissulfeto (-SS), proteínas pela oxidação do grupo sulfidril e apresenta ação no crescimento radicular, alongamento foliar, afrouxamento da parede celular, provavelmente ocasionado pela degradação de polissacarídeos provocado por este radical (BARBOSA et al., 2014; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Tanto as plantas como os animais possuem a capacidade de desenvolverem mecanismos de proteção contra a citotoxicidade das EROs, sendo enzimáticas ou não enzimáticas (BARBOSA et al., 2014). A proteção contra os radicais livres é de suma importância à integridade das estruturas celulares e das macromoléculas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os antioxidantes são compostos que possuem a capacidade de desacelerar o processo de oxidação, através da inibição de radicais livres e complexação de metais (BARBOSA et al., 2014). As substâncias consideradas antioxidantes são capazes de parar ou inibir a oxidação lipídica e interrompem a iniciação ou propagação de reações ocorridas em cadeias oxidativas (AGARWAL; VARMA, 2015). Segundo Erkan (2012), os antioxidantes neutralizam ou eliminam as EROs por meio da doação de hidrogênio antes do seu ataque as células. A capacidade de ativar os antioxidantes pode prevenir o acúmulo de EROs e o estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2014).

Os antioxidantes podem ser divididos em primário e secundário. Primário quando apresenta a capacidade de desacelerar ou inibir a ação dos

EROs por meio da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio e secundário, por meio da ligação de íons metálicos, remoção de oxigênio, desativação do oxigênio singlete e conversão de hidroperóxidos de espécies não-radicaais (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007).

Existem substâncias naturais, sintéticas e enzimas que apresentam atividades antioxidantes, como o ácido ascórbico (vitamina C), vitamina E, β -caroteno, α -tocoferol, glutatona, compostos fenólicos, flavonoides, butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e galato de propila (GP) (ERKAN, 2012; NEVES et al., 2009). Dentro das enzimas antioxidantes estão a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APx), glutatona redutase (GR), peroxidases (POD), catalase (CAT) e prolifenoxidase (PPO) (BARBOSA et al., 2014).

A enzima SOD destrói o radical superóxido, convertendo-o em H_2O_2 e O_2 e a CAT vai atuar convertendo o peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 . Dentre das substâncias naturais o ácido ascórbico e α -tocoferol são os mais importantes antioxidantes. A vitamina C é encontrada em nosso corpo na forma de ascorbato, que tem como função reduzir metais de transição (Fe^{3+} e Cu^{2+}) que se encontram nos sítios ativos das enzimas ou na forma livre no organismo. A vitamina E é constituída por tocoferóis e tocotrienóis sendo o α -tocoferol o mais ativo. Estas substâncias atuam com doadoras de H^+ para a radical peroxila. Cada substância pode reagir com até dois radicais peroxila, tornando assim o tocoferol desativado irreversivelmente (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; VAN ACKER et al., 1996).

Os compostos antioxidantes podem desativar os radicais livres através da transferência de átomo de hidrogênio ou de um elétron, ambos os processos podem ocorrer ao mesmo tempo. Nos métodos que ocorrem a transferência do átomo hidrogênio são independentes do pH do solvente (MIGUEL, 2007).

Existem métodos *in vitro* rápidos e eficientes para identificar a ação antioxidante em extratos vegetais, sendo os ensaios de captura de espécies reativas de oxigênio DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico] (CAI et al., 2004; SOARES et al., 2008).

No ensaio de DPPH sua solução apresenta a cor púrpura com absorvância de 517nm, sendo uma técnica influenciada pelo solvente e pH. Quanto por ação de um antioxidante o DPPH é reduzido originando o 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) (Figura 4), à presença de um antioxidante na amostra testada transforma a cor púrpura em amarela (AGARWAL; VARMA, 2015; ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013; OLIVEIRA A. C. et al., 2009).

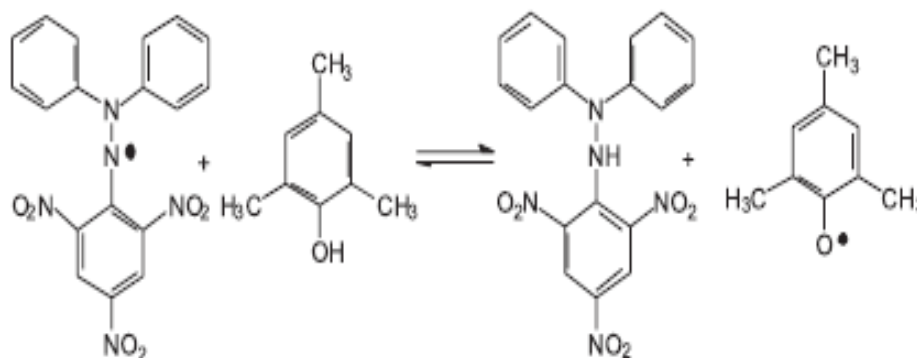


Figura 4 Reação química entre o antioxidante BHT e o radical DPPH
Fonte Oliveira A. C. et al. (2009)

“Substâncias fenólicas são reconhecidamente detentoras de pronunciada atividade antioxidantes, atuando como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais” (PESSUTO et al., 2009). Os antioxidantes fenólicos apresentam interação com o radical peroxil, devido ao fato de ser o mais prevalente na etapa da autoxidação, sendo assim favorável a captura do seu hidrogênio (ANGELO; JORGE, 2007). Os compostos fenólicos atuam

combatendo os radicais livres por meio da doação de um átomo de hidrogênio (SUCUPIRA et al., 2012).

A desprotonação em meio básico dos fenóis (Figura 7) origina os ânions fenolatos, em seguida ocorre uma reação de oxirredução entre o ânion fenolato e reagentes de *Folin*, onde o molibdênio (componente do reagente de *Folin*) sofre redução e mudança de coloração amarela para azul (OLIVEIRA A. C. et al., 2009).

A atividade antioxidante dos flavonoides pode ser determinada por alguns fatores: (a) reativo com agente doador de H e elétrons, (b) estabilidade do radical flavonoil, (c) capacidade de efetuar a quelação de metais de transição e (d) inter-relação com as membranas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

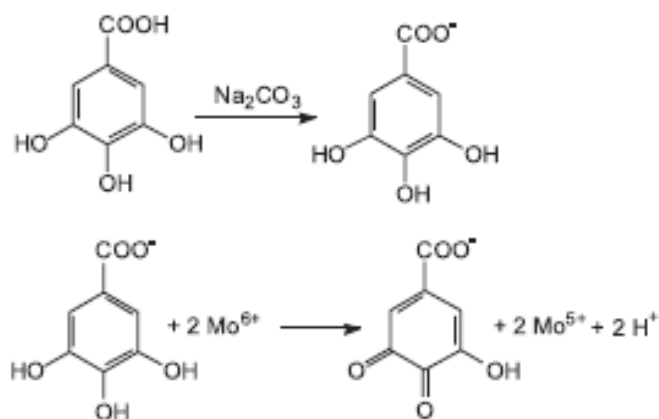


Figura 5 Reação do composto fenólico (ácido gálico) com molibdênio
Fonte Oliveira A.C. et al. (2009)

O método de capacidade de antioxidante total (ou fosfomolibdênio) é baseado a partir da redução do molibdênio (MO^{+6}) a molibdênio (MO^{+5}), em pH ácido na presença de compostos com atividade antioxidante a formação de um complexo verde entre fosfato molibdato (MO^{+5}), por determinação espectrofotométrica a 695 nm (BALESTRIN et al., 2008; PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999).

A quelação de metais é um dos possíveis mecanismos de ação das substâncias antioxidantes. O método do poder quelante irá sequestrar os complexos de íons metálicos principalmente ferro II (Fe^{2+}) (MIGUEL, 2010). O método do poder redutor baseia-se na redução do Fe^{+3} , onde avalia a capacidade de compostos fenólicos em reduzir o Fe^{+3} , originando um complexo colorido com Fe^{+2} (SANTOS et al., 2007).

Conforme ocorre o envelhecimento, os sistemas que utilizam os antioxidantes com proteção e defesa contra os EROS também diminuem sua eficiência aumentando assim a chance do surgimento de várias patologias humanas, como câncer, Alzheimer, diabetes, aterosclerose, neurodegeneração, imunossupressão e doenças cardiovasculares, isto os novos antioxidantes naturais, isolados principalmente de plantas com propriedades medicinais têm adquirido grande importância na aplicação industrial, cosméticos, fármacos e alimentícios (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; SAEED; KHAN; SHABBIR, 2012; SILVA et al., 2009).

Quando uma planta é submetida a estresse provocado pelo ambiente envolvendo a produção de radicais livres, esta produção é maior que a capacidade de atuação dos antioxidantes ocasionando o estresse oxidativo, causando assim, danos no DNA, na proteína citotóxica e peroxidação lipídica (YAZICI et al., 2007). Segundo Barbosa et al. (2014), os níveis das espécies reativas de oxigênio estão associados a atividade antioxidante das enzimas, como no processo de sinalizar e defender o vegetal contra o déficit hídrico, salinidade, temperaturas extremas, metais pesados e ataques de patógenos.

A tolerância da espécie *Portulaca oleracea* (beldroega) à salinidade pode estar relacionado ao aumento da atividade antioxidante para eliminar ERO (YAZICI et al., 2007). As raízes da *Bupleurum chinense* apresentam mecanismo de atividade antioxidante para resistir ao estresse hídrico (ZHU; LIANG; HAN, 2009).

Várias espécies medicinais possuem atividades antioxidantes como, *Allium cepa* (cebola), *Allium sativum* (alho), *Annona squamosa* (Pinha), *Brassica oleracea* (couve), *Camellia sinensis* (Chá verde), *Panax ginseng* (ginseng) (DALLAQUA; DAMASCENO, 2011), *Lycopersicon esculentum* cv. Débora e *Lycopersicon esculentum* cv. Alambra (tomate) (ROCHA; SILVA, 2011), *Psidium guajava* (goiaba) (OLIVEIRA et al., 2011) e *Mentha aquática* (hortelã) (CONFORTI et al., 2008).

3.3 *Portulaca oleracea* L.

3.3.1 Aspectos botânicos

Portulaca oleracea Linn, pertencente à família Portulacaceae é considerada uma planta daninha, sendo encontrada em todo mundo. Popularmente conhecida como beldroega, beldroega-da-horta, beldroega-vermelha, berdoega, caruru-de-porco, ora-pro-nóbis, porcelana, salada-de-negro, caoponga, bredo-de-porco, onze-horas e vergolaga (LORENZI; MATOS, 2002; MOREIRA; BRAGANÇA, 2011; SHEHATA, 2014). É infestante em áreas cultivadas atingindo 45 culturas em 81 países (pomares de laranja, videiras, mamão, maracujá, morangos, arroz, milho, algodão, tabaco, cana de açúcar e trigo) (CHAUHAN; JOHNSON, 2009; MIYANISHI; CAVERS, 1980).

De acordo com Lorenzi e Matos (2002, p. 443) esta espécie apresenta as seguintes características morfológicas (Figura 6):

Herbácea prostrada, anual, suculenta, ramificada, completamente glabra, com ramos de coloração rosa de 20-40 cm de comprimento, originária provavelmente do norte da África e naturalizada em território brasileiro. Folhas simples, alternas, carnosas, de 1-2 cm de comprimento. Flores solitárias, axilares, de cor amarela, que abrem-se apenas na parte da manhã. Os frutos são cápsulas deiscentes, com sementes pretas e brilhantes. Existem formas cultivadas

para fins ornamentais desta espécie, com flores muito maiores e de várias cores.



Figura 6 Espécie *Portulaca oleracea*.

Fonte Arquivo pessoal

Ainda apresenta poucos tricomas axilares inconspícuos, exibe 2 a 6 flores (com 4 a 6 pétalas amarelas pálidas ligeiramente mais curtas do que as sépalas), e fruto sem ala membranácea, podendo ser definido como pixídio e uma única planta pode produzir cerca de 10.000 sementes (Figura 7). Suas folhas são compostas quase exclusivamente por tecidos de armazenamento de água, quando esta espécie é submetida a estresse hídrico a planta perde suas folhas conseguindo sobreviver até a normalização da água (CHAUHAN; JOHNSON, 2009; COELHO; GIULIETTI, 2010; MIYANISHI; CAVERS, 1980).

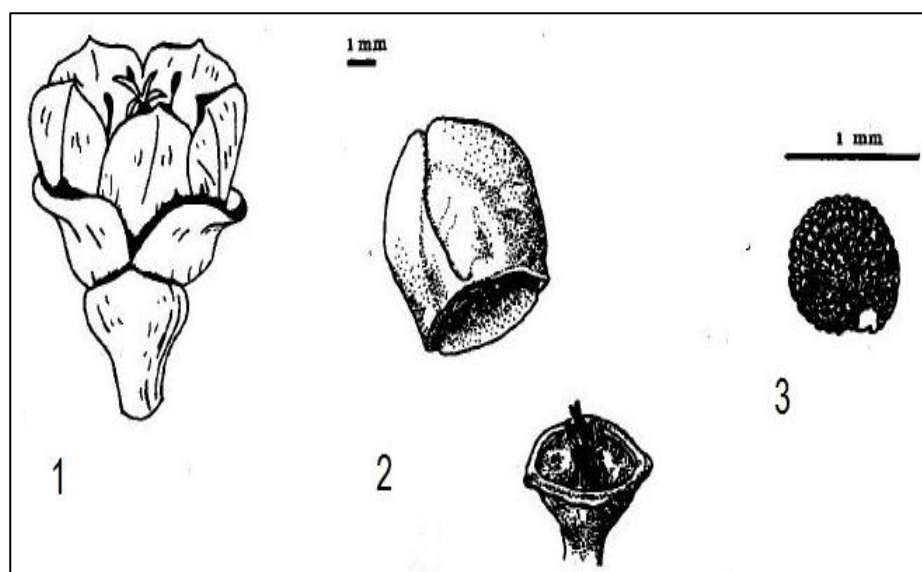


Figura 7 Características morfológica da flor, vagem e sementes de *P. oleracea*.
(1. Flor, 2. Vagem, 3. Semente)

Fonte Miyanishi e Cavers (1980)

3.3.2 Uso

As folhas e os caules da beldroega são suculentos e comestíveis, apresentando sabor característico ao do espinafre (*Spinacia oleracea*) (LIM; QUAH, 2007). É utilizada como vermífugo, antibacteriano, analgésico, anti-inflamatório, diurético, antipirético, emoliente, hipocolesterolêmico, hepatoprotetor, antioxidante, anticancerígeno, cicatrizante, broncodilatador, neuroprotetor, antisséptico, antiulcerogênico e no tratamento de hemorróidas (KUMAR et al., 2008; MASOODI, 2011; ZHOU et al., 2015). Esta espécie foi listada pela Organização Mundial da Saúde como uma das plantas mais utilizada pela a população, sendo caracterizada como “Panaceia global” (ZHOU et al., 2015).

Extrato aquoso de beldroega em uso oral demonstrou atividade de relaxamento muscular em ratos comparado com clordiazepóxido, diazepam e dantroleno (PARRY; OKWUASABA; EJIKE, 1987).

A beldroega pode ser utilizada como complemento alimentar para animais. Na alimentação de frangos levou a ração a uma melhor palatabilidade aumentando seu consumo. Esta planta seca aumentou o peso e a produção de ovos, não havendo a diminuição na concentração de colesterol no ovo (AYDIN; DOGAN, 2010; ZHAO et al., 2013).

3.3.3 Fitoquímica

Em relação a sua composição química foi identificada a presença: ácido α -linolênico, β -caroteno, flavonoides (apigenina, canferol, luteolina, miricetina e quercetina), cumarinas, saponinas, óleos fixos, compostos fenólicos, monoterpênos, alcaloides, hidratos de carbono, aminoácidos, esteroides, taninos, mucilagem, ácido oxálico, ácido ascórbico, antraquinona, glutathione, riboflavina, sendo encontrada também a presença de derivados da catecolamina (Figura 8) (ALAM et al., 2014; BAKKIYARAJ; PANDIYARAJ, 2011; KUMAR et al., 2008; LORENZI; MATOS, 2002; MASOODI, 2011; XU; YU; CHEN, 2006).

Possui a presença de ômega-6, ácido aconítico, fumárico, málico, cítrico e é considerada uma das mais abundantes fontes vegetais terrestres ricas em ômega-3 (OLIVEIRA I. et al., 2009; TEIXEIRA; CARVALHO; BRODELIUS, 2010). A beldroega possui oxalato e alto teor de nitrato (> 2500 mg kg⁻¹) apresentando valores mais elevados do que o espinafre (GILBERT et al., 2014). Em relação nutricional é encontrada proteína, carboidrato, fósforo total, cálcio, potássio, ferro, magnésio cobre e vitamina C (MOHAMED; HUSSEIN, 1994).

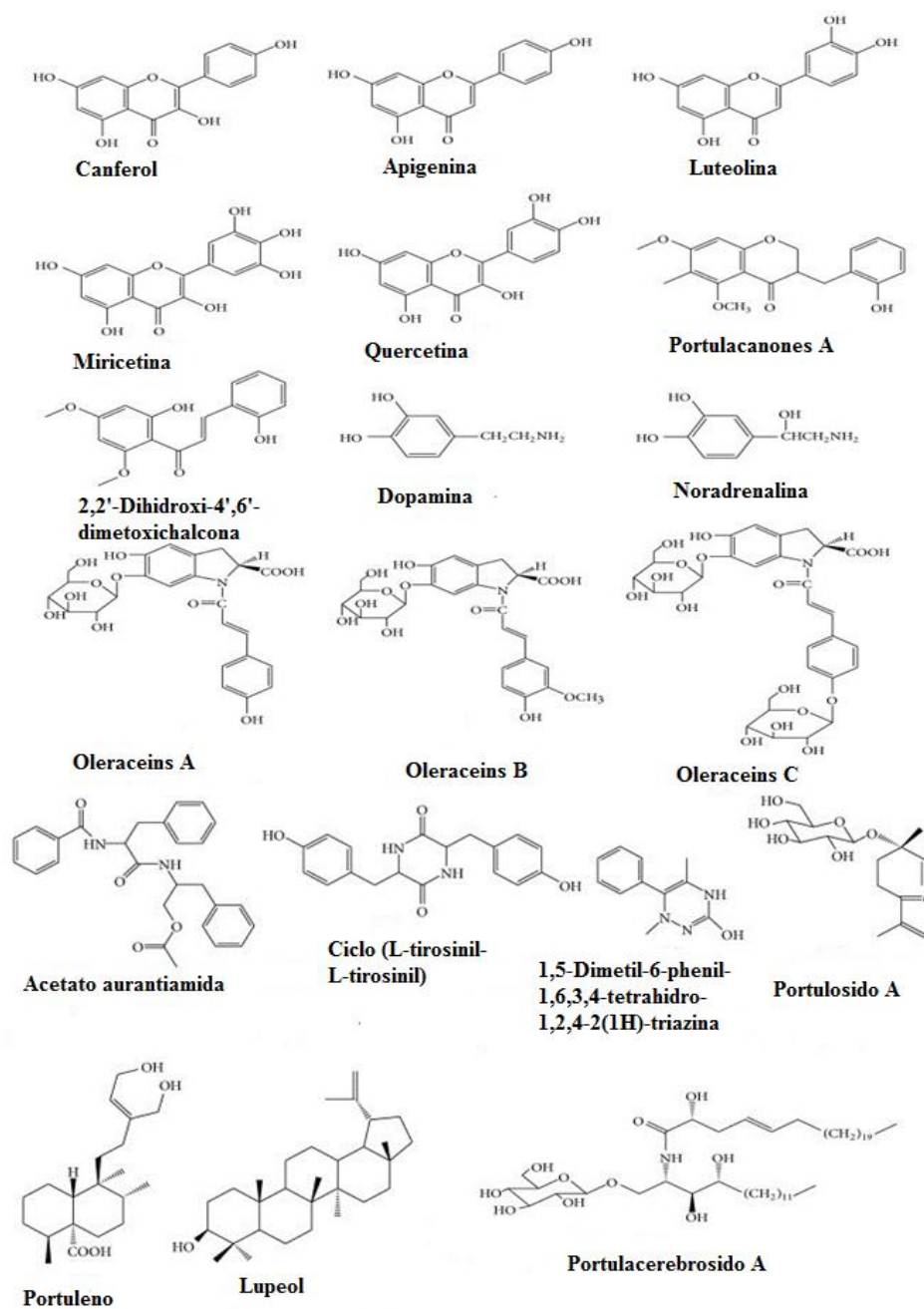


Figura 8 Estruturas químicas de alguns compostos encontrados em *Portulaca oleracea*

Fonte Adaptado de Zhou et al. (2015)

3.3.4 Aspectos agronômicos

Esta espécie pode ser cultivada o ano todo, se adaptando a vários tipos de clima. Seu plantio (Figura 9) pode ser realizado diretamente em canteiro ou através de sementeiras, ocorrendo germinação em até sete dias e em torno de 20 dias as mudas estão prontas para serem transplantadas, apresentando quatro a seis folhas definitivas (BRASIL, 2010).

As sementes de beldroega necessitam de altas temperaturas para germinar, sendo ideal acima de 30°C. Esta espécie é sensível ao frio que pode ocasionar sua morte. Quanto maior atividade luminosa maior será o rendimento da massa fresca e mais saudável e vigorosa é o crescimento da planta (MIYANISHI; CAVERS, 1980).

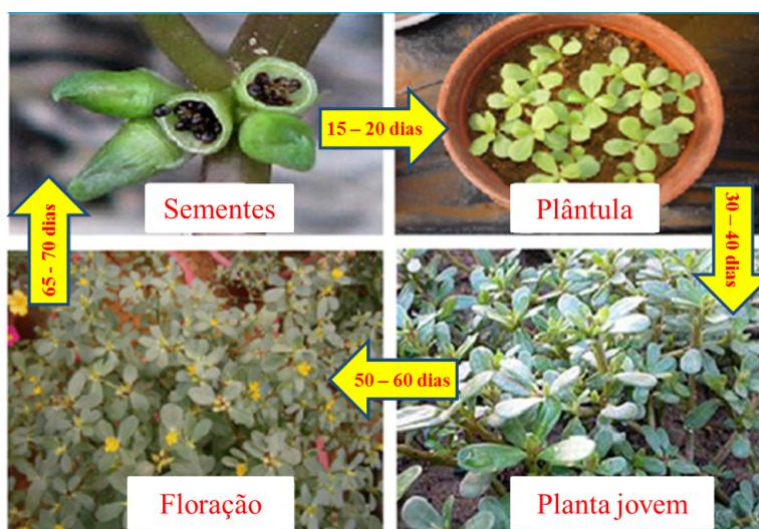


Figura 9 Ciclo de vida da *Portulaca oleracea*

Fonte Adaptado de Alam et al. (2014)

A colheita da beldroega plantada diretamente em canteiro pode ser realizada a partir 75 a 80 dias após a sementeira, já as plantas que foram feitas através de mudas podem ser colhidas entre 40 a 60 dias (BRASIL, 2010).

3.4 *Raphanus raphanistrum* L.

3.4.1 Aspectos botânicos

Popularmente conhecido com nabiça, nabo, rabanete-de-cavalo, saramago e nabo-bravo, pertence à família Brassicaceae (Cruciferae). É uma planta considerada invasora, de origem Européia, mas que se encontra espalhada em grande escala na região sul do Brasil, causando danos às culturas de inverno (FERREIRA et al., 2002; LORENZI, 1991; PEREIRA et al., 2014).

Segundo Lorenzi (1991), *Raphanus raphanistrum* L. (Figura 10 e 11) é uma espécie anual, herbácea, com cerca de 50-100 cm de altura, muito ramificada, suas folhas são alternadas, como lobos arredondados. As inflorescências desta planta são terminais com muitas flores de coloração variadas (branco, lilás e amarelo claro), seus frutos são síliquas indeiscentes com 3-5 cm de comprimento contendo 2 a 10 sementes.

A nabiça é uma planta diploide, alógama e fortemente competitiva com espécies cultivadas (BARNAUD et al., 2013). Suas sementes possuem um alto potencial de germinação (MACIEL; KIMURA; POLETINE, 2004).

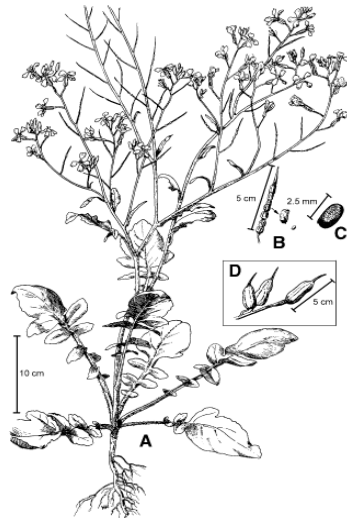


Figura 10 Características morfológicas da nabiça. (A) Planta; (B) Vagem; (C) Semente; (D) Vagem inflada
 Fonte Warwick e Francis (2005)



Figura 11 Flores de *R. raphanistrum* L.
 Fonte Arquivo pessoal

R. raphanistrum é muito similar morfológicamente com a *R. sativus* (nabo silvestre), apresentando a capacidade de cruzamento entre as duas espécies. Estima-se que o nabo silvestre tenha derivado da nabiça. Estas espécies se diferenciam principalmente através das características morfológicas do fruto (Figura 12) e da cor das flores antes da fecundação, a siliqua indeiscente do nabo silvestre apresenta o aspecto uniforme, diferente da nabiça (THEISEN, 2008).

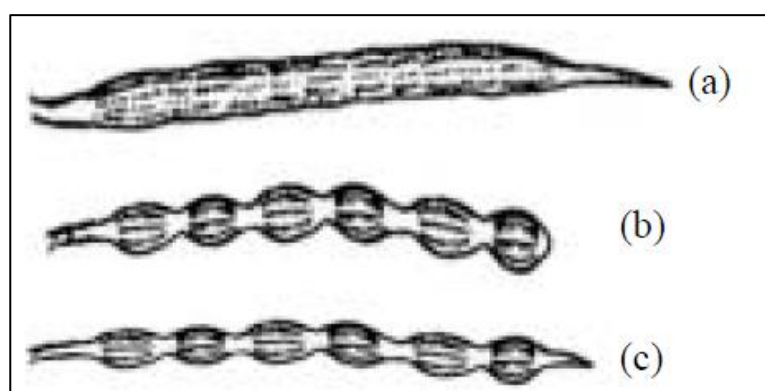


Figura 12 Forma da siliquas de *R. sativus* (a) e de *R. raphanistrum* (b e c)
Fonte Theisen (2008)

3.4.2 Uso

O pólen produzido pela nabiça é utilizado na medicina popular, nas empresas de alimentos e farmacêuticas. Em países como México, Itália, Paquistão e Turquia as folhas desta espécie são utilizadas na alimentação humana. No México se emprega a folha também na alimentação do gado, na Inglaterra as sementes têm sido usadas como um substituto para a mostarda e na Itália as folhas são usadas como antirreumático, anti-inflamatório e antioxidante. A nabiça é legalmente classificada como erva daninha nociva no Canadá e nas províncias de Quebec e Alberta (KÜÇÜKBOYACI et al., 2012; WARWICK; FRANCIS, 2005).

3.4.3 Fitoquímica

Na sua composição química, encontram-se os ácidos graxo, palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, eicosenóico e erúico e flavonoides (quercetina, canferol, isoramnetina e 8-*O*-metilherbacetina-8-*O*-glucoside) (MARKHAM; CAMPOS, 1996; WARWICK; FRANCIS, 2005).

O potencial alelopático, fungicida, inseticida, nematoide e biofumigação da família Brassicaceae, incluindo a nabiça pode estar associada com a produção de glicosinolatos (GLSs). Um metabolito secundário que contém enxofre na sua estrutura química e apresenta uma unidade de açúcar ligada a uma aglicona (MALIK et al., 2010).

Através de danos ocasionados nos tecidos vegetais, à enzima mirosinase por hidrólise provoca a degradação do GLS, originando β -D-glicose e uma aglicona instável, que passa por rearranjo com a perda de sulfato. Vários produtos são formados no final deste processo, incluindo os isotiocianatos, tiocianatos, nitrilas e cianetos orgânicos (Figura 13) (MARTINEZ-BALLISTA; CARVAFAL, 2015; PALANI et al., 2016; RYBARCZYK-PLONSKA et al., 2016; SIMÕES et al., 2007; YI et al., 2016).

Na nabiça os GLSs identificados são, glucoiberina, glucorafanina, gluconapina, glucobrassicina, glucosinalbina, gluconasturtina, progoitrina, glucorafenina, glucoerucina e glucotropaeolina (MALIK et al., 2010; SANCHEZ- LEÓN et al., 2015).

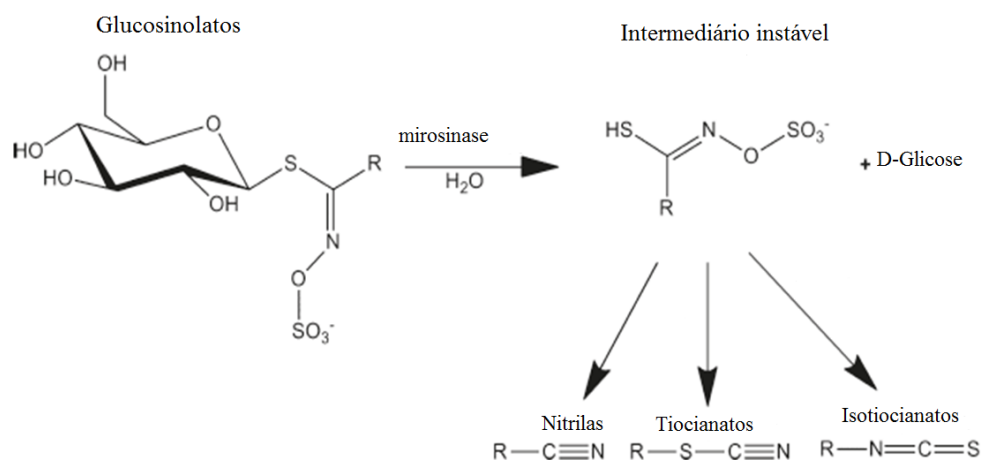


Figura 13 Compostos tóxicos normalmente produzidos durante a quebra dos glucosinolatos por mirosinase
 Fonte Adaptado de Malik et al. (2010)

3.4.4 Aspectos agronômicos

Em relação a teste alelopático, Wandscheer e Pastorini (2008) constataram que o extrato aquoso das folhas e raízes da nabiça nas concentrações de 5 e 10% apresentaram efeitos sobre a porcentagem de germinação, velocidade de germinação, índice de velocidade e comprimento radicular de sementes de alface.

Devido sua possível atividade alelopática, a nabiça é utilizada como cobertura vegetal suprimindo a emergência de plantas daninhas. Testes realizados em casa de vegetação mostraram que o extrato aquoso da biomassa seca não afetou o desenvolvimento de milho (*Zea Mays* L.) demonstrando tolerância, porém o extrato influenciou na inibição da germinação e crescimento radicular de guanxuma-de-espinho (*Sida spinosa* L.), glória da manhã sem caroço (*Ipomoea lacunosa* L.) e fedegoso (*Senna obtusifolia* L.). A guanxuma-de-espinho e a fedegoso foram mais sensíveis ao extrato reduzindo mais de 95% do peso fresco (NORSWORTHY, 2003).

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, K.; VARMA, R. antioxidant ability of some common indian vegetables. **Journal of Young Pharmacists**, Semeling, v. 7, p. 262-266, July/Sept. 2015.
- ALAM, M. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. D. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Riyadh, v. 21, p. 143–152, Apr. 2013.
- ALAM, M. A. et al. Genetic improvement of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) and its future prospects. **Molecular Biology Reports**, Basel, v. 41, p. 7395-7411, Nov. 2014.
- ALI, I. B. E. H. et al. Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 77, p. 631–639, 2015.
- ALVES, M. C. S. Allelopathic effect of essential oils of medicinal plants in *Bidens pilosa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 3, p. 731-736, 2014.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- AYDIN, R.; DOGAN, I. Fatty acid profile and cholesterol content of egg yolk from chickens fed diets supplemented with purslane (*Portulaca oleracea* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 90, p. 1759–1763, 2010.
- BAKKIYARAJ, S.; PANDIYARAJ, S. Evaluation of potential antimicrobial activity of some medicinal plants against common food-borne pathogenic microorganism. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, Jalagaon, v. 2, n. 2, p. 484-491, Apr./June 2011.
- BALESTRIN, L. et al. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multififormis* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 230-235, abr./jun. 2008.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, mar. 2014.

BARNAUD, A. et al. Patterns of weed invasion: evidence from the spatial genetic structure of *Raphanus raphanistrum*. **Biological Invasions**, Dordrecht, v. 15, n. 11, p. 2455–2465, Nov. 2013.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BORRELLA, J. et al. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 7, n. 3, p. 260-265, jul./ set. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de hortaliças não-convencionais**. Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/docs/manual_hortaliças_web.pdf>. Acesso em: 22 set. 2015.

CAI, Y. et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, Oxford, v. 74, n. 17, p. 2157–2184, Mar. 2004.

CARVALHO, W. P. et al. Alelopatia de adubos verdes sobre feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 10, n. 1, p. 86-93, jan./mar. 2012.

CARVALHO, W. P. et al. Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a Germinação e crescimento inicial de alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 1-11, 2014.

CHAUHAN, B. S.; JOHNSON, D. E. Seed germination ecology of *Portulaca oleracea* L.: an important weed of rice and upland crops. **Annals of Applied Biology**, London, v. 155, p. 61–69, 2009.

CHOU, C. H. **Biochemical interactions among plants: allelopathy as ecosystem regulator**. Disponível em: <<http://www.eolss.net/sample-chapters/c03/e6-54-10-05.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2016.

- COELHO, A. A. O. P.; GIULIETTI, A. M. O gênero *Portulaca oleracea* L. (Portulacaceae) no Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 24, n. 3, p. 655-670, 2010.
- CONFORTI, F. et al. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 116, p. 144–151, 2008.
- DALLAQUA, B.; DAMASCENO, D. C. Comprovação do efeito antioxidante de plantas medicinais utilizadas no tratamento do Diabetes mellitus em animais: artigo de atualização. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 367-373, 2011.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimento de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.
- EINHELLIG, F. A.; RASMUSSEN, J. A. Effects of three phenolic acids on chlorophyll content and growth of soybean and grain Sorghum seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 5, n. 5, p. 815-824, 1979.
- EL-GAWAD, A. M. A. Chemical constituents, antioxidant and potential allelopathic effect of the essential oil from the aerial parts of *Cullen plicata*. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 80, p. 36–41, p. 2016.
- ERKAN, N. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. **Food Chemistry**, Barking, v. 133, n. 3, p. 775-781, Aug. 2012.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Porto Alegre, v. 12, p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, E. A. et al. Estudos anatômicos de folhas de plantas daninhas. I - *Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, n. 2, p. 159-167, 2002.
- FORMAGIO, A. S. N. et al. Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 629-638, out. 2014.
- GATI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GILABERT, C. E. et al. Characterization of purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions: Suitability as ready-to-eat product. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 172, p. 73-81, 2014.

GOETZE, M.; THOMÉ, G. C. H. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 43-50, jan./mar. 2004.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia e ciência agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 1, p. 23- 28, fev. 2009.

HOSSAIN, M. K.; ANWAR, S.; NANDI, R. Allelopathic effects of *Mikania cordata* on forest and agricultural crops in Bangladesh. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 27, n.1, p. 155–159, 2016.

KÜÇÜKBOYACI, N. et al. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous extract from *Raphanus raphanistrum* L. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, Istanbul, v. 9, n.1, p. 93-100, 2012.

KUMAR, B. S. A. et al. Pharmacognostical studies of *Portulaca oleracea* Linn. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 527-531, Oct./ Dec. 2008.

LAYNEZ-GARSABALL, J. A.; MÉNDEZ-NATERA, J. R. efectos de extractos acuosos del follaje del corocillo (*Cyperus rotundus* L.) sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) cv. arapatol s-15. **Idesia**, Arica, v. 24, n. 2, p. 61-75, mayo/agosto 2006.

LIM, Y. Y; QUAH, E. P. L. Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. **Food Chemistry**, Barking, n. 103, p. 734–740, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativa e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1991. 440 p.

MACIEL, C. D. G.; KIMURA, M.; POLETINE, J. P. Desenvolvimento inicial de *Raphanus raphanistrum*, *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* em solo de

baixa fertilidade e condições de inverno e primavera. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, n. 6, p. 1-11, dez. 2004.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some thai indigenous plants. **Food Chemistry**, Barking, v. 100, n. 4, p. 1409–1418, 2007.

MALIK, M. S. et al. Glucosinolate profile variation of growth stages of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n.6, p. 3309–3315, 2010.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia, Série Botânica**, Porto alegre, v. 60, n. 1, p. 91-98, jan./jun. 2005.

MARKHAM, K. R.; CAMPOS, M. 7- and 8-*O*-methylherbacetin-3-*O*-sophorosides from bee pollens and some structure/activity observations. **Phytochemistry**, New York, v. 43, n. 4, p. 763–767, Nov. 1996.

MARTINEZ-BALLESTA, M. D. C.; CARVAJAL, M. Myrosinase in Brassicaceae: the most important issue for glucosinolate turnover and food quality. **Phytochemistry Reviews**, New York, v. 14, p. 1045-1051, 2015.

MASOODI, M. H. *Portulaca oleracea* L. a review. **Journal of Pharmacy Research**, New Delhi, v. 4, n. 9, p. 3044-3048, set. 2011.

MIGUEL, M. G. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, Washington, v. 15, n. 12, p. 9252-9287, Dec. 2010.

MIGUEL, M. G. Plantas aromáticas e medicinais como antioxidantes naturais: métodos de análise. In: FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. **Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais**: curso teórico-prático. 3. ed. Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 2007. p. 106-136. Disponível em: <<http://cbv.fc.ul.pt/PAM/pdfsLivro/GracaMiguel.pdf> >. Acesso em: 14 fev. 2016.

MIRÓ, C. P.; FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia de frutos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 8, p. 1261-1270, ago. 1998.

- MIYANISHI, K.; CAVERS, P. B. The biology of Canadian weeds. 40. *Portulaca oleracea* L. **Journal of Plant Science**, Limerick, v. 60, p. 951-963, July 1980.
- MOHAMED, A. I.; HUSSEIN, A. S. Chemical composition of purslane (*Portulaca oleracea*). **Plant Foods for Human Nutrition**, Elmsford, v. 45, p. 1-9, 1994.
- MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas infestantes: hortifrúti**. São Paulo: FMC Agricultural Products, 2011. 1017 p.
- NEVES, J. M. et al. Actividade antioxidante e avaliação *in vitro* da citotoxicidade de extractos aquosos de folhas de mentha x piperita. **Revista da Faculdade de Ciências da saúde**, Porto, v. 6, p. 344-354, 2009.
- NORSWORTHY, J. K. Allelopathic potential of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). **Bio One**, Washington, v. 17, n. 2, p. 307-313, 2003.
- OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.
- OLIVEIRA, D. S. et al. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 89-98, 2011.
- OLIVEIRA, I. et al. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. **Microchemical Journal**, New York, v. 92, n. 2, p. 129-134, July 2009.
- OLIVEIRA, J. S. et al. Avaliação de extratos das espécies *Helianthus annuus*, *Brachiaria brizantha* e *Sorghum bicolor* com potencial alelopático para uso como herbicida natural. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Campinas, v. 17, n. 3, p. 379-384, 2015.
- PALANI, K. et al. Influence of fermentation on glucosinolates and glucobrassicin degradation products in sauerkraut. **Food Chemistry**, Barking, v. 190, p. 755-762, 2016.

PARRY, O.; OKWUASABA, F. K. C.; EJIKE, C. Skeletal muscle relaxant action of an aqueous extract of *Portulaca oleracea* in the rat. **Journal of ethnopharmacology**, Lausanne, v. 19, p. 247-253, 1987.

PEREIRA, M. R. R. et al. Estresse hídrico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 687-696, maio/jun. 2014.

PESSUTO, M. B. et al. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 412-416, 2009.

PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. Cap. 5, p. 95-124.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analysis Biochemistry**, Oxford, v. 269, n. 2, p. 337-341, June 1999.

ROCHA, C. B.; SILVA, J. Atividade antioxidante total em tomates produzidos por cultivos orgânico e convencional. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 27-30, jan./mar. 2011.

RYBARCZYK-PLONSKAA, A. et al. Glucosinolates in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) as affected by postharvest temperature and radiation treatments. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 116, p. 16-25, 2016.

SAEED, N.; KHAN, M. R.; SHABBIR, M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 1, p. 1-12, 2012.

SANCHEZ-LEON, G. et al. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanus raphanistrum* L. sobre tres hongos fitopatógenos. **Bioagro**, Viçosa, MG, v. 27, n.1, p. 3-10, abr. 2015.

SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

SARTOR, L. R. et al. Alelopatia de acículas de pínus na germinação e desenvolvimento de plântulas de milho, picão preto e alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 470-480, mar./abr. 2015.

SHEHATA, H. F. Allelopathic potential of *Portulaca oleracea* L. seed extracts on germination and seedling growth of *Cichorium endivia* L., *Lactuca sativa* L., *Echinochloa crus-galli* L., and *Crassica tournefortii* Gouan. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, Polokwane, v. 2, n. 4, p. 388-396, Aug. 2014.

SILVA, G. D. F. et al. Antioxidant activity of *Maytenus imbricata* Mart., Celastraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 530-536, 2009.

SILVA, P. B. et al. Avaliação do potencial alelopático, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos orgânicos das folhas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 447-455, 2011.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. 1104 p.

SOARES, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 28 n. 3, p. 727-732, jul./set. 2008.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 260 p.

SOUZA FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório – revisão crítica. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 28, n. 3, p. 689-697, 2010.

SOUZA FILHO, A. P. S.; TREZZI, M. M.; INOUE, M. H. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 709-716, 2011.

SPIASSI, A. et al. Allelopathic effects of pathogenic fungi on weed plants of soybean and corn crops. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, p. 1037-1048, 2015.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, n. 14, v. 4, p. 263-269, 2012.

TAVEIRA, L. K. P. D.; SILVA, M. A. P.; LOIOLA, M. I. B. Allelopathy in five species of *Erythroxylum*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 325-331, July/Sept. 2013.

TEIXEIRA, M. C.; CARVALHO, I. S.; BRODELIUS, M. ω -3 fatty acid desaturase genes isolated from purslane (*Portulaca oleracea* L.): expression in different tissues and response to cold and wound stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 3, p. 1870–1877, 2010.

THEISEN, G. **Aspectos botânicos e relato a resistência de nabo silvestre os herbicidas inibidores de ALS**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 26 p. (Documento, 239).

VAN ACKER, S. A. B. E. et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 20, n. 3, p. 331–342, 1996.

WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, L. H. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 949-953, jul. 2008.

WARWICK, S. I.; FRANCIS, A. The biology of Canadian weeds. 132. *Raphanus raphanistrum*. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 85, p. 709-733, 2005.

XU, X.; YU, L.; CHEN, G. Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 493–499, May 2006.

YAZICI, I. et al. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation

and proline accumulation. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 61, p. 49–57, 2007.

YI, G. Root Glucosinolate profiles for screening of radish (*Raphanus sativus* L.) genetic resources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 64, p. 61–70, 2016.

ZHAO, X. H. et al. Effect of *Portulaca oleracea* extracts on growth performance and microbial populations in ceca of broilers. **Poultry Science**, College Station, v. 92, p. 1343-1347, May 2013.

ZHOU, Y. X. et al. *Portulaca oleracea* L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects. **BioMed Research International**, Cairo, v. 1, p. 1-11, 2015.

ZHU, Z.; LIANG, Z.; HAN, R. Saikosaponin accumulation and antioxidative protection in drought-stressed *Bupleurum chinense* DC. plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 66, p. 326–333, 2009.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

**ARTIGO 1 POTENCIAL ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS
FENÓLICOS TOTAIS DE *Portulaca oleracea* E *Raphanus raphanistrum***

Maria de Fátima Santos¹

Adenilson Henrique Gonçalves²

Suzan Kelly Vilela Bertolucci³

¹ Mestranda no Programa de Pós-graduação em Plantas Mediciniais, Aromáticas e Condimentares pela Universidade Federal de Lavras – UFLA.

² Prof.^o Dr. do Departamento de Agricultura, DAG – Universidade Federal de Lavras – UFLA.

³ Prof.^a Dr.^a do Departamento de Agricultura, DAG – Universidade Federal de Lavras – UFLA.

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme orientação do Manual de Normalização da UFPA.

RESUMO

As substâncias consideradas antioxidantes têm chamando bastante atenção devido às suas ações contra as espécies reativas de oxigênio, responsáveis pelo surgimento de doenças como câncer, diabete e Alzheimer. Este trabalho objetiva quantificar os compostos fenólicos totais e a avaliar o potencial antioxidante *in vitro* de diferentes extratos de *Portulaca oleracea* (beldroega) e *Raphanus raphanistrum* (nabiça). Os extratos foram preparados por refluxo em água ultrapura e maceração dinâmica utilizando solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura). Os extratos obtidos foram filtrados e evaporados sob vácuo, em seguida foram realizados os cálculos dos rendimentos extrativos. Os compostos fenólicos foram quantificados pelos ensaios de fenóis totais, flavonoides e dihidroflavonoides e o potencial antioxidante foi verificado pelos métodos de capacidade antioxidante total (CAT), poder redutor, poder quelante e a atividade de sequestro de radicais livres (DPPH). As correlações dos métodos de quantificação e antioxidante foram obtidas através da análise de correlação canônica. Independente dos métodos extrativos, os extratos aquosos foram os que apresentaram maior rendimento para ambas as plantas. Dos extratos obtidos, somente o extrato hexânico não demonstrou resultados significativos nos ensaios de quantificação e antioxidante. No ensaio do poder quelante os extratos aquosos da nabiça apresentaram melhor atividade de quelação do Fe^{+2} ($0,002 \pm 0,0$ mg/mL). Na beldroega o extrato butanólico apresentou um elevado efeito antioxidante no ensaio do poder redutor comparado com o ácido ascórbico. Ambas as espécies apresentaram uma alta correlação entre a quantificação de compostos fenólicos e os métodos antioxidantes. Os resultados deste trabalho indicaram a atividade antioxidante da beldroega e da nabiça em ensaios realizados em *in vitro*.

Palavras-chave: Beldroega. Nabiça. Espécie reativa de oxigênio. DPPH. Fenóis.

ABSTRACT

The antioxidants have considered calling a lot of attention because of its actions against reactive oxygen species responsible for the emergence of diseases such as cancer, diabetes and Alzheimer's. This study aimed to quantify the total phenolic compounds and evaluate the antioxidant potential *in vitro* of different extracts of *Portulaca oleracea* (purslane) and *Raphanus raphanistrum* (turnip). The extracts were prepared by refluxing in ultrapure water and dynamic maceration using increasingly polar solvents (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, butanol and ultrapure water). The extracts were filtered and evaporated under vacuum, then the calculation yields of extractives were performed. Phenolic compounds were quantified by total phenols tests, flavonoids and dihydroflavonoides and the antioxidant potential was verified by total antioxidant capacity methods (CAT), reducing power, chelating power and sequestering activity of free radicals (DPPH). Correlations of quantification methods and antioxidant were obtained by canonical correlation analysis. Regardless of extractive methods, the aqueous extracts showed the highest yield for both plants. The extracts, only the hexane extract did not show significant results in quantitation assays and antioxidant. In the trial of chelation power aqueous extracts of turnip showed better chelation activity of Fe^{+2} ($0,002 \pm 0,0$ mg/mL). In the butanolic purslane extract showed a high antioxidant effects in the test of reducing power compared to ascorbic acid. Both species have a high correlation between the quantification of phenolic compounds and antioxidant methods. These results indicate the antioxidant activity of purslane and turnip in trials *in vitro*.

Keywords: Purslane. Turnip greens. Reactive oxygen species. DPPH. Phenols.

1 INTRODUÇÃO

Os antioxidantes são compostos que possuem a capacidade de desacelerar o processo de oxidação, por meio de inibição de radicais livres e complexação de metais (BARBOSA et al., 2014). Essas substâncias são capazes de parar ou inibir a oxidação lipídica e interromper a iniciação ou propagação de reações ocorridas em cadeias oxidativas (AGARWAL; VARMA, 2015), neutralizando ou eliminando as espécies reativas de oxigênio (EROs) por meio da doação de hidrogênio antes do seu ataque as células (ERKAN, 2012).

Portulaca oleracea L. que pertence à família Portulacaceae, que abrange cerca de 19 gêneros e 500 espécies. Popularmente conhecida como beldroega, beldroega-da-horta, beldroega-vermelha, caruru-de-porco, ora-pro-nóbis é uma planta muito apreciada na culinária e no uso medicinal (LORENZI; MATOS, 2008; SHANKER; DEBNALH, 2015).

As atividades analgésicas, diuréticas, hipolipemiantes, antiulcerogênicas, anti-inflamatórias, anticonvulsivante, antipiréticas, antissépticas, vermífugas, antibacterianas e antimicrobianas são citadas na literatura para *P. oleracea* (SHANKER; DEBNALH, 2015; ZHOU et al., 2015). Na sua composição química apresenta cumarinas, saponinas, óleos fixos, compostos fenólicos, monoterpene glicosídeo, alcaloides, hidratos de carbono, aminoácidos, esteroides, taninos, mucilagem, ácido oxálico, ácido ascórbico, antraquinona, glutatona, riboflavina sendo encontrada também a presença de derivados da catecolamina, ácido α -linolênico, β -caroteno, flavonoides (apigenina, kaempferol, luteolina, miricetina e quercetina) (ALAM et al., 2014a; BAKKIYARAJ; PANDIYARAJ, 2011; KUMAR et al., 2008; LORENZI; MATOS, 2008; MASOODI, 2011; XU; YU; CHEN, 2006).

Raphanus raphanistrum L., popularmente conhecida como nabiça, nabo, rabanete-de-cavalo, saramago e nabo-bravo, pertencente à família Brassicaceae,

a qual engloba aproximadamente 3.700 espécies, distribuídas em 321 gêneros, com membros importantes na agricultura (HUANG et al., 2016; LORENZI, 1991).

R. raphanistrum é uma planta apreciada em países como México, Itália, Paquistão e Turquia na alimentação humana, é também utilizada na medicina tradicional como anti-reumático, anti-inflamatório e antioxidante (KÜÇÜKBOYACI et al., 2012; WARWICK; FRANCIS, 2005). Em sua composição química, encontram-se ácidos graxo, palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico. Estão presentes também flavonoides (quercetina e kaempferol) e glicosinolatos (glucoiberina, glucorafanina, gluconapina, glucobrassicina, glucosinalbina, gluconasturtina, progoitrina, glucorafenina, glucoerucina e glucotropaeolina) (MALIK et al., 2010; SANCHEZ- LEÓN et al., 2015; WARWICK; FRANCIS, 2005).

Diante do exposto o presente trabalho objetivou-se em quantificar os compostos fenólicos totais e avaliar o potencial antioxidante *in vitro* de diferentes extratos das folhas secas de *P. oleracea* e *R. raphanistrum*.

2 MATERIAIS E MÉTODO

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e no Laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Os espécimes em questão estão depositados no herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) sobre o código PAMG 57858 (*P. oleracea* L.) e PAMG 57809 (*R. raphanistrum* L.). As plantas em estudo foram cultivadas em vasos de plástico (10 litros), contendo uma mistura de solo e areia (1:1), sendo mantidas em casa de vegetação. Após o cultivo, as folhas foram colhidas e secadas em estufa a $40\pm 2^{\circ}\text{C}$, até peso constante.

2.1 Obtenção dos extratos

Os extratos de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* foram preparados sob refluxo em água e por maceração dinâmica com solventes de polaridades crescentes a 10% (p/v), a partir das folhas secas pulverizadas. A pulverização do material vegetal foi feita em micromoinho de facas Marconi[®] modelo MA-048.

O material vegetal submetido ao refluxo em água permaneceu sob essa condição por 20 minutos após ebulição. O material vegetal submetido à maceração dinâmica em água e com solventes de polaridades crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura) por 24 horas sob agitação constante de 146 rpm utilizando Gio Gyrotory Shaker.

Todos os extratos foram filtrados a vácuo e concentrados em evaporador rotatório a 50°C, sob pressão reduzida, até resíduo. Os rendimentos extrativos foram determinados e expressos em porcentagem ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de folhas secas). Na Figura 1 consta o fluxograma que representa o processo de obtenção dos extratos.

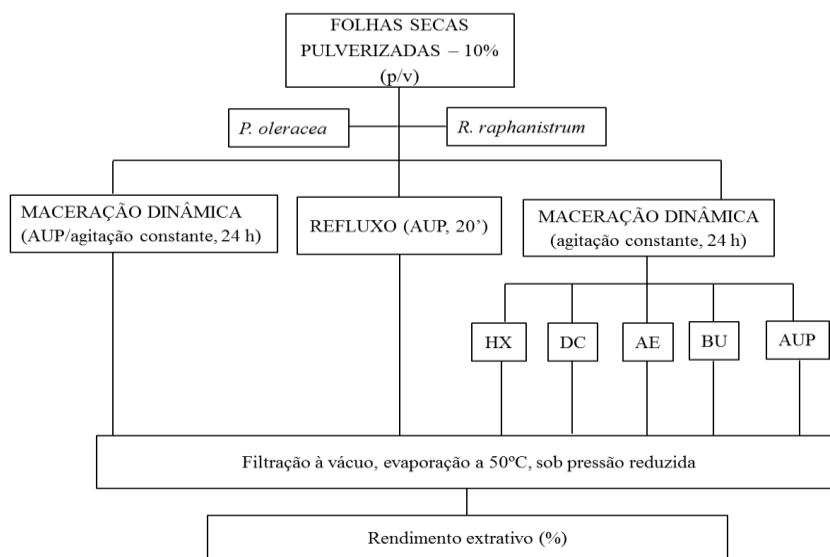


Figura 1 Fluxograma sucinto do processo de obtenção dos extratos de *P. oleracea* e *R. raphanistrum*. **HX**: hexano; **DC**: diclorometano; **AE**: acetato de etila; **BU**: butanol; **AUP**: água ultrapura

2.2 Reagentes e Espectrofotômetro

Solução de *Folin-Ciocalteu*; Carbonato de sódio (Na_2CO_3); Cloreto de Alumínio (AlCl_3); 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); Ferricianeto de potássio [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$]; 2,4- dinitrofenilhidrazina (DNP); Hidróxido de potássio (KOH) Ácido Tricloroacético (CCl_3COOH), Ferrozina [3-(2-piridil)-5,5-bis-(4-ácido fenil sulfônico)-1,2,4-triazina]; cloreto férrico (FeCl_3); Ácido sulfúrico (H_2SO_4), Fosfato de sódio, molibdato de amônio, Tampão de fosfato de sódio (pH 6,0), álcool etílico PA, álcool metílico PA e butanol PA.

Os padrões utilizados foram o ácido gálico (Sigma-Aldrich®, Steinheim, Alemanha) pureza $\geq 98\%$, quecetina (Sigma-Aldrich®, Steinheim, Alemanha) pureza $\geq 95\%$, naringenina (Sigma-Aldrich®, Steinheim, Alemanha) pureza $\geq 95\%$, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), Butilhidroxitolueno (BHT) e ácido ascórbico (Sigma-Aldrich®, Steinheim, Alemanha) pureza 99,7-100,5%. As leituras espectrofotométricas foram mensuradas em leitora de microplacas TECAN Infinity® M200 PRO.

2.3 Quantificação de compostos fenólicos

Os extratos no item 2.1 preparados com hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol foram ressuspensos em solução etanólica 70% e os extratos aquosos foram resuspensos em água ultrapura, todos na concentração de 25 mg/mL e diluídos na proporção de 1/1 a 1/32.

2.3.1 Determinação dos fenóis totais

A quantificação dos fenóis totais foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Slinkard e Singleton (1977), usando o reagente *Folin-Ciocalteu*. As reações foram realizadas em microplaca, tomando-se 50 μL das soluções extrativas (item 2.3), 100 μL de solução aquosa de *Folin-Ciocalteu* a

10% (v/v) e 125 μL de Na_2CO_3 . Uma amostra em branco foi preparada com 50 μL de solução extrativa e 225 μL água.

Para a reação, a microplaca permaneceu por 120 minutos a ausência de luz, à temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a leitura a 760 nm. O teor de fenóis totais foi determinado usando uma curva de calibragem de ácido gálico ($y = 5,8937x + 0,2134$; $R^2 = 0,993$), cuja faixa de linearidade compreendeu as concentrações de 0,41 a 0,03 mg/mL de solução etanólica de ácido gálico. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em miligrama equivalentes em ácido gálico por g de material vegetal seco (mg EAG /g).

2.3.2 Quantificação de flavonoides (flavonas e flavonóis totais)

A quantificação de flavonoides foi determinada pelo método de Ahn et al. (2007). Foram transferidos para os poços de uma microplaca 100 μL da soluções extrativas (item 2.3) volume igual de solução etanólica de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 2%. Após 40 minutos à temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram mensuradas a 420 nm, contra uma amostra em branco (100 μL de etanol 70% + 100 μL dos extratos). O conteúdo total de flavonoides foi determinado usando uma curva de calibragem de quercetina, ($y = 3,5028x + 0,0589$; $R^2 = 0,9999$), cuja faixa de linearidade foi de 0,16 a 0,01 mg/mL de solução etanólica. O conteúdo total de flavonoides foi expresso em miligramas equivalentes em quercetina por grama de material vegetal seco (mg EQ /g).

2.3.3 Quantificação dos dihidroflavonoides (flavonanois e flavanonas)

A quantificação de dihidroflavonoides foi realizada de acordo com Popova, Bankova e Butovska (2004). As reações foram realizadas em tubo *safe lock*, tomando-se 200 μL da solução extrativa e 400 μL de solução metanólica de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNP) as quais foram homogeneizadas e aquecidas a

50°C em banho-maria por 50 min. Após arrefecimento à temperatura ambiente, adicionaram-se 1400 µL de solução metanólica KOH 10% (v/v) à solução reagente (amostra+DNP). Em seguida, 50 µL da solução reagente (amostra+DNP+KOH) foram diluídos em 950µL de metanol e centrifugados a 5.000 rpm, por 3 minutos. Um volume de 200 µL de cada amostra foi transferido para os poços da microplaca.

As absorbâncias foram lidas a 486 nm. O conteúdo de dihidroflavonoides foi determinado com base na curva de calibragem ($y = 0,162x + 0,0651$; $R^2 = 0,9989$) que compreendeu a faixa de concentração de 2,6 a 0,08 mg/mL de solução metanólica de naringenina. Os resultados foram expressos em miligrama equivalentes em naringenina por g de material vegetal seco (mg EN/g).

2.4 Ensaio do potencial antioxidantes

As soluções extrativas utilizada para identificar o potencial antioxidantes de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* esta descrito no item 2.3.

2.4.1 A atividade da captura de radicais livres por DPPH

O ensaio de captura de radicais livres de DPPH foi realizado conforme o método proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Foram adicionadas 50 µL das soluções extrativas (item 2.3) à 250 µL de solução etanólica de DPPH. As soluções foram mantidas em repouso à temperatura ambiente no escuro por 60 minutos. As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 517 nm. Foi usado como padrão o BHT (controle positivo). A porcentagem da atividade antioxidante (% Ativ. Antiox.) foi dada a partir da fórmula 1:

$$\% \text{ Ativ. Antiox.} = \frac{Ac - (A1 - Ab)}{Ac} \times 100$$

Onde: Ac = Absorbância do controle; A1= Absorbância da amostra com DPPH; Ab= absorvância da amostra sem DPPH.

Para obter o IC₅₀, o cálculo foi realizado sobre a equação da reta, onde foi substituído o valor do Y por 50 (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009).

2.4.2 Determinação do poder quelante

O poder quelante dos extratos foi avaliado de acordo com Miguel et al. (2010). A reação foi realizada diretamente nos poços da microplaca, onde homogeneizaram-se 100 µL das soluções extrativas (item 2.3), 30 µL de FeCl₂ e 70 µL de etanol 70%, após 10 minutos de repouso, acrescentou 40 µL de ferrozina. Para o teste branco acrescentou-se 40 µL de água destilada no lugar da ferrozina. As absorvâncias das soluções foram medidas a 562 nm. A porcentagem de inibição (I%) da formação do complexo ferrozina-Fe²⁺ foi determinada usando a fórmula 2:

$$I\% = \frac{(A0 - A1)}{A0} \times 100$$

Em que A0 é a absorvância do complexo ferrozina-Fe²⁺ e A1 a absorvância das amostras analisadas. Os resultados foram expressos como IC₅₀, correspondendo à concentração eficaz para a quelação de 50% de íons de Fe²⁺. EDTA foi utilizado como padrão (controle positivo).

2.4.3 Capacidade antioxidante total (CAT)

A capacidade antioxidante total foi determinada pelo método de redução do molibdato de amônio descrito por Prieto, Pineda e Aguilar (1999). 200 µL das soluções extrativas (item 2.3) foram homogeneamente com 1500 µL da solução reagente (ácido sulfúrico 0,6M, fosfato de sódio 28mM e molibdato de amônio 4mM). Após 90 minutos de reação em banho-maria a 95°C, as amostras foram arrefecidas à temperatura ambiente e suas absorbâncias mensuradas a 695 nm. A curva de calibragem da solução aquosa de ácido ascórbico compreendeu a faixa de 1,5 a 0,078 mg/mL. A partir da equação da reta $y = 1,9909x + 0,0796$, $R^2 = 0,9992$. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em miligrama equivalentes em ácido ascórbico por g de material vegetal seco (mg EAA /g).

2.4.4 Poder redutor

Para determinar o poder redutor foi usado o método de Oyaizu (1986). Volume de 25 µL das soluções extrativas (item 2.3), 100 µL de tampão fosfato de sódio 0,2M (pH 6,0) e 100 µL de solução aquosa de ferrocianeto de potássio a 1% (p/v) foram pipetadas em tubos de tipo *safe lock* os quais permaneceram durante 20 minutos em banho-maria, a 50°C.

Em seguida, 100 µL de solução aquosa de ácido tricloroacético a 10% (p/v), 300 µL de água destilada e 60 µL de cloreto férrico foram adicionados à mistura. O volume de 250 µL foi transferido para os poços da microplaca e a intensidade da cor azul-verde foi medido 700 nm. O ácido ascórbico foi utilizado como padrão e os ensaios, com diferentes extratos, foram realizados em triplicata.

2.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e multivariada, onde no teste de ANOVA as médias foram comparadas pelo teste *Scott-Knott* com nível de significância de 5% usando-se o programa Sisvar. Para a análise multivariada foi utilizado o teste de variáveis canônicas (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ensaio extrativos foram realizados objetivando-se obter extratos de folhas secas de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* com composições químicas diferentes e avaliar a relação entre os teores de compostos fenólicos e o potencial antioxidante. As técnicas de maceração dinâmica e refluxo foram empregados, por serem técnicas extrativas mais eficientes quando comparadas a outras, tais como a maceração estática.

Para ambas as espécies os extratos aquosos apresentaram maiores teores de extrativos (Tabela 1). Na *P. oleracea* o extrato aquoso obtido por refluxo apresentou o maior rendimento (30%), já na *R. raphanistrum* foi o extrato aquoso por maceração (46,6%).

Tabela 1 Rendimento dos extratos de *P. oleracea*, e *R. raphanistrum*

Técnica Extrativa	Ensaio extrativo	Material vegetal (g)	Solvente	Volume solvente (mL)	Massa extrato seco (g)	Rendimento (%)
<i>P. oleracea</i>						
REFLUXO	PRAUP	50	AUP	500	14,98	30,0a
	PMAQ	20	AUP	200	4,56	23,0b
MACERAÇÃO	PMHX	50	HX	500	1,23	2,46d
	PMDC	50	DC	500	0,64	1,28f
	PMAE	50	AE	500	0,43	0,86g
	PMBU	50	BU	500	0,98	1,97e
	PMAUP	50	AUP	500	10,21	20,4c
<i>R. raphanistrum</i>						
REFLUXO	RRAUP	28	AUP	280	8,76	31,0c
	RMAQ	30	AUP	300	14,0	46,6a
	RMHX	40	HX	400	1,15	2,87d
	RMDC	40	DC	400	1,06	2,65e
MACERAÇÃO	RMAE	40	AE	400	0,52	1,30g
	RMBU	40	BU	400	0,86	2,15f
	RMAUP	40	AUP	400	14,1	35,2b

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estaticamente entre si ao nível de $P < 0,05$ segundo o teste de *Scott-Knott*. **P:** *P. oleracea*; **R:** refluxo; **M:** maceração; **AQ:** extrato aquoso obtido por maceração; **HX:** hexano; **DC:** diclorometano; **AE:** acetato de etila; **BU:** butanol; **AUP:** água ultrapura e *R. raphanistrum*.

O conteúdo de fenóis totais dos extratos aquosos obtidos por meio das técnicas de refluxo e maceração e dos solventes de polaridade crescente foram determinados em mg equivalente em ácido gálico (mgEAG/g), o teor de flavonóis foi determinado em termos de mg equivalente em quercetina e os dihidroflavonoides foram expressados por mg equivalente em naringenina por g de material vegetal seco (mgEN/g), os resultados foram apresentados nas Tabela 2 e 3.

Na espécie *P. oleracea* (Tabela 2) o extrato obtido a partir do acetato de etila ($5,2 \pm 0,07$ mg EAG/g) foi mais elevado em relação ao conteúdo de fenóis, seguido pelo extrato butanol ($3,3 \pm 0,11$ mg EAG/g), o extrato hexânico mostrou menor quantificação.

Tabela 2 Teores de compostos fenólicos nos extratos das folhas secas de *P. oleracea*

EXTRATOS	Fenóis (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	Dihidroflavonoides (mg EN/g)
PRAUP	1,9±0,05d	3,1±0,03d	3,3±0,01f
PMAQ	0,9±0,03e	3,5±0,05d	2,8±0,01g
PMHX	0,6±0,06f	12,4±0,33b	6,9±0,28d
PMDC	2,4±0,02c	20,0±0,11a	9,6±0,02c
PMAE	5,2±0,07a	19,6±0,12a	11,2±0,24b
PMBU	3,3±0,10b	10,6±0,60c	15,5±0,01a
PMAUP	1,9±0,10d	2,0±0,10e	3,7±0,09e
CV	3,05	2,78	1,89

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estaticamente entre si ao nível de $P < 0,05$ segundo o teste de *Scott-Knott*.

Tabela 3 Teores de compostos fenólicos nos extratos das folhas secas de *R. raphanistrum*

EXTRATOS	Fenóis (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	Dihidroflavonoides (mg EN/g)
RRAUP	4,3±0,07d	3,1±0,08b	2,9±0,40e
RMAQ	5,6±0,10c	2,0±0,18c	9,4±0,06c
RMHX	1,0±0,20f	3,0±0,16b	14,6±0,07b
RMDC	1,3±0,00e	0,9±0,05e	16,1±0,50a
RMAE	9,4±0,02a	0,4±0,12f	9,3±0,30c
RMBU	8,3±0,02b	8,7±0,12a	9,3±0,33c
RMAUP	8,1±0,13b	1,6±0,13d	5,6±0,60d
CV	1,81	4,49	4,17

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estaticamente entre si ao nível de $P < 0,05$ segundo o teste de *Scott-Knott*.

No teste de flavonoides o butanol e o acetato de etila foram os que apresentaram maior taxa deste metabolito secundário. Os extratos aquosos obtidos por diferentes métodos extrativos não se diferenciaram estatisticamente. O butanol demonstrou ser o melhor solvente para quantificar o dihidroflavonoide (15,5±0,01 mg EN/g).

Para a espécie *R. raphanistrum* (Tabela 3) o acetato de etila permaneceu sendo o melhor solvente para quantificar os fenóis totais (9,4±0,02 mg EAG/g), o hexano mostrou o menor conteúdo de fenóis totais (1,0±0,2 mg EAG/g).

O extrato obtido pelo butanol demonstrou mais elevada à presença do flavonoide. Em relação ao dihidroflavonoide foi o diclorometano ($16,1 \pm 0,5$ mg EN/g) que se destacou, onde neste ensaio o extrato aquoso obtido por refluxo foi o que menor quantificou este composto químico ($2,9 \pm 0,4$ mg EN/g).

Já foram relatados, em outros trabalhos, a presença de fenóis totais nos extratos de *R. raphanistrum* por Kuçukboyaci et al. (2012) identificaram $43,32$ (mg EAG/g) no extrato aquoso liofilizado das partes aéreas secas e Conforti et al. (2008) verificaram no extrato etanólico das folhas $28 \pm 0,31$ mg/g para fenóis totais e $7,95 \pm 0,11$ mg/g equivalente a ácido clorogênico (EAC) para flavonoides.

Para *P. oleracea*, Alam et al. (2014b) quantificaram $0,96 \pm 0,04$ a $9,12 \pm 0,29$ mg EAG/g de fenóis totais e $0,13 \pm 0,04$ a $1,44 \pm 0,08$ mg ER/g de flavonoides do extrato metanólico obtidos de plantas provenientes de 13 acessos diferentes. Já Conforti et al. (2011) obtiveram $200,5 \pm 1,9$ mg EAC/g de fenóis no extrato hidroalcoólico.

Solventes como acetato de etila, butanol e diclorometano se destacaram por serem capazes de extrair compostos fenólicos, a exemplo dos flavonoides e também antraquinona, que é um composto oxigenado originado a partir da oxidação de fenóis (AHMED; KHAN; SAEED, 2015; ANDERSEN; MARKHAN, 2006; SIMÕES et al., 2007). De acordo com a polaridade da solução, diferentes concentrações de fenóis podem ser extraídas, onde Vieira et al. (2015) verificaram que solução polar (metanol) melhor quantificou os fenóis totais do que solução apolar (hexano). O mesmo foi verificado neste trabalho em que os extratos de *R. raphanistrum* e *P. oleracea* obtidos com solventes com maior polaridade apresentaram melhores resultados de quantificação quando comparados com os de características apolares (hexano).

Os testes de DPPH e poder quelante foram analisados a partir do IC_{50} . O IC_{50} expressa à quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% à

concentração inicial de DPPH e ferrozina (MIGUEL et al., 2010; NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009). Desta forma, quanto menor o valor do IC₅₀ maior é a capacidade da amostra em sequestrar radicais livres, confirmado, assim, a sua atividade antioxidante (SANTOS et al., 2013).

Os extratos de *P. oleracea* preparados com acetato de etila e butanol apresentaram maior atividade antioxidante no ensaio de captura de radical livre DPPH (Tabela 4). Embora, não tenha sido tão eficaz quanto ao controle positivo (BHT- 0,032±0,00 mg/mL).

Tabela 4 Potencial antioxidante de *P. oleracea*

EXTRATOS	DPPH (IC ₅₀ =mg/mL)	Poder Quelante (IC ₅₀ =mg/mL)	CAT (mg EAA/g)
PRAUP	0,4±0,03c	0,1±0,00d	8,3±0,1c
PMAQ	0,4±0,10c	0,1±0,00d	5,7±0,3e
PMHX	2,1±0,07a	0,5±0,09b	6,1±0,1e
PMDC	0,6±0,01b	1,0±0,02a	11,3±0,6b
PMAE	0,1±0,01d	0,2±0,07c	16,0±0,6a
PMBU	0,1±0,01d	0,2±0,03c	11,4±0,3b
PMAUP	0,4±0,01c	0,1±0,00d	7,2±0,6d
CV	7,82	14,84	4,69

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estaticamente entre si ao nível de P<0,05 segundo o teste de *Scott-Knott*. Controle positivo do DPPH= IC₅₀ 0,032±0,00 mg/mL de BHT; Poder quelante = IC₅₀ 0,04±0,01 mg/mL de EDTA.

Vários trabalhos foram realizados para verificar a atividade antioxidante de *P. oleracea* pelo método de DPPH. Agarwal e Varma (2015) observaram que o extrato metanólico demonstrou inibição máxima de 54,85±0,08% na concentração de 100µg/mL. Lim e Quah (2007), constataram também a atividade antioxidante em seis cultivares de beldroega no extrato metanólico com IC₅₀ de 0,89±0,07 a 3,41±0,41 mg/mL. Testes com 13 acessos diferentes apresentaram o IC₅₀ de 2,52±0,03 e 3,29±0,01 mg/mL, indicando a maior atividade antioxidante a de 2,52±0,03 mg/mL (ALAM et al., 2014b) e no extrato

hidroalcoólico mostrou uma atividade de eliminação de radicais livres ($0,027 \pm 0,6$ mg/mL) (CONFORTI et al., 2011).

Na espécie *R. raphanistrum* no ensaio de captura de radicais livres DPPH (Tabela 5) o extrato obtido pelo acetato de etila foi o que demonstrou mais atividade antioxidante, porém, não sendo tão eficiente quanto o controle positivo.

Estes resultados ratificam a baixa antioxidante do teste DPPH para esta espécie em que o extrato etanólico das folhas apresenta baixo potencial antioxidante inferior a 30% (THE LOCAL FOOD-NUTRACEUTICALS CONSORTIUM, 2005).

Conforti et al. (2008) verificaram que o extrato etanólico das folhas apresentaram IC_{50} de $0,121 \pm 0,28$ mg/mL e o ácido ascórbico demonstrou IC_{50} igual a $0,002 \pm 0,03$ mg/mL. Em outro estudo Conforti et al. (2011) identificaram IC_{50} de $268 \pm 0,0028$ mg/mL.

Tabela 5 Potencial antioxidante de *R. raphanistrum*

EXTRATOS	DPPH (IC_{50} =mg/mL)	Poder Quelante (IC_{50} =mg/mL)	CAT (mg EAA/g)
RRAUP	$0,10 \pm 0,01e$	$0,002 \pm 0,0d$	$4,3 \pm 0,06c$
RMAQ	$0,42 \pm 0,0a$	$0,002 \pm 0,0d$	$2,9 \pm 0,15e$
RMHX	$0,19 \pm 0,01c$	$1,1 \pm 0,07b$	$3,4 \pm 0,27d$
RMDC	$0,39 \pm 0,02b$	$1,2 \pm 0,15a$	$8,4 \pm 0,03b$
RMAE	$0,06 \pm 0,0g$	$0,2 \pm 0,00c$	$8,8 \pm 0,25a$
RMBU	$0,09 \pm 0,0f$	$1,1 \pm 0,02b$	$8,8 \pm 0,02a$
RMAUP	$0,13 \pm 0,0d$	$0,002 \pm 0,0d$	$4,4 \pm 0,02c$
CV	3,92	12,22	2,62

Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem estaticamente entre si ao nível de $P < 0,05$ segundo o teste de *Scott-Knott*. Controle positivo do DPPH= IC_{50} $0,032 \pm 0,00$ mg/mL de BHT; Padrão Poder quelante = IC_{50} $0,04 \pm 0,01$ mg/mL de EDTA.

No entanto, Kuçukboyaci et al. (2012) analisaram que o extrato aquoso das partes aéreas do *R. raphanistrum* comparado com BHT ($0,51 \pm 0,01$ mg/mL),

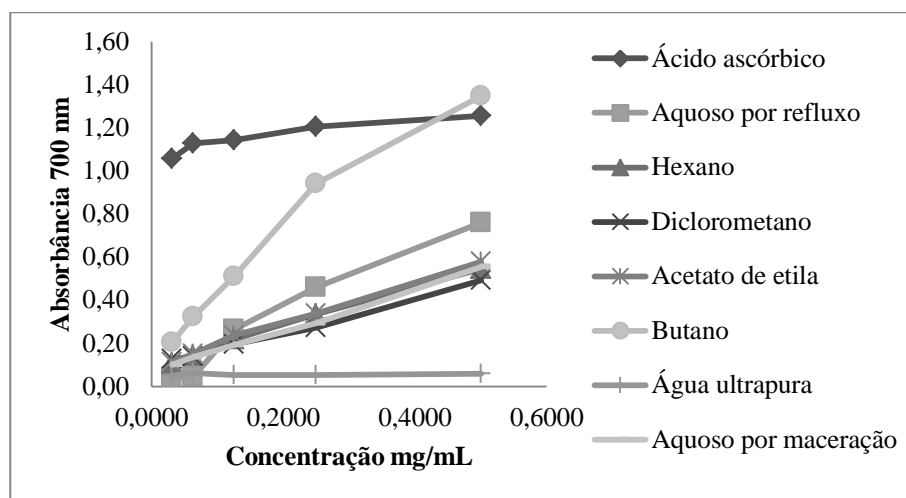
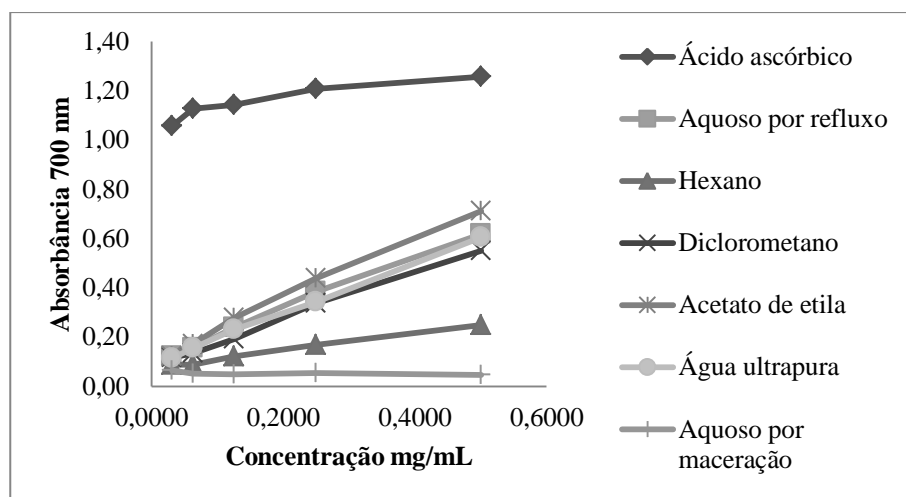
quercetina ($0,059 \pm 0,01$ mg/mL) e ácido ascórbico ($0,09 \pm 0,01$ mg/mL), apresentou atividade de eliminação de radicais de DPPH ($IC_{50} = 8,78 \pm 0,75$ mg/mL).

No ensaio do poder quelante ocorre o sequestro dos complexos de íons metálicos principalmente o ferro II (Fe^{+2}) (MIGUEL, 2010). Os extratos aquosos independente do método extrativo (Tabela 4 e 5) para as duas espécies estudadas foram os que melhor apresentaram atividade de quelação dentre as amostras. Comparando os resultados do controle positivo (EDTA $-0,04 \pm 0,01$ mg/mL) com os obtidos pelas duas plantas somente a nabiça apresentou efeito antioxidante ($0,002 \pm 0,0$ mg/mL), sendo esta atividade de quelação do Fe^{+2} melhor que o EDTA.

Estes resultados corroboram com os obtidos por Peksel, Arisan-Atac e Yanardag (2006), que observaram o poder quelante para o extrato aquoso por refluxo de *P. oleracea*, ($0,037$ mg/mL equivalente ao EDTA).

No que diz respeito ao ensaio da redução do molibdato (CAT) o extrato em acetato de etila foi o que apresentou maior capacidade antioxidante para a *P. oleracea* ($16,0 \pm 0,7$ mg/mL) e para a *R. raphanistrum* foi o butanol e acetato de etila ($8,8 \pm 0,26$ mg/mL).

O Gráfico 1 representa o poder redutor dos extratos de *P. oleracea* em relação ao ácido ascórbico. Apenas o extrato butanólico em concentrações acima de $0,4$ mg/mL apresentou essa atividade. Para *R. raphanistrum* nenhum extrato apresentou potencial antioxidante por esse mecanismo (Gráfico 2).

Gráfico 1 Poder redutor dos extratos de *P. oleracea*Gráfico 2 Poder redutor dos extratos de *R. raphanistrum*

Segundo Peksel, Arisan-Atac e Yanardag (2006) o poder redutor do extrato aquoso da parte aérea de *P. oleracea* obtido por refluxo aumentou a partir do aumento da concentração baseado na absorbância de 700 nm, sendo a partir da concentração de 0,02 mg/mL semelhante ao controle positivo (α -

tocoferol). Estes resultados corroboram com o obtido com no extrato aquoso por refluxo na beldroega, sendo o segundo melhor extrator, apresentando efeito antioxidante a partir 0,2 mg/mL comparada com ácido ascórbico. Nos trabalhos de Alam et al. (2014b), Lim e Quah (2007) também identificaram a atividade antioxidante do extrato metanólico de *P. oleracea* pelo método de poder redutor.

Análise de correlação canônica (ACC)

A correlação canônica pode ser empregada para simplificar a estrutura dos dados, onde grandes vetores de variáveis são sintetizados em números menores para realização da inter-relação entre elas (FEREIRA, 2011). Esta análise pode ser utilizada para avaliar a relação entre o perfil fenólico e capacidade antioxidante de cada método (LINGUA et al., 2016)

Na espécie *P. oleracea* os testes realizados para atividade antioxidante (DPPH, CAT e poder quelante) e quantificação de compostos fenólicos (fenóis totais, flavonoides e dihidroflavonoides) demonstraram uma alta correlação entre si, em que o primeiro par de variáveis canônicas apresentou uma correlação de 0,9910 e o segundo par de 0,9598, sendo que essas duas correlações foram estatisticamente significativas pelo teste F sequencial (Tabela 6).

Tabela 6 Teste F sequencial

Correlação para as variáveis canônicas	Valor de P. do teste de F sequencial
0,9910	0,0001
0,9598	0,0001
0,0308	0,9003

Na Tabela 7 é apresentado os coeficientes dos dois primeiros pares de variáveis canônicas.

Tabela 7 Resultados das correlações canônicas

Pares de variáveis canônicas	Variáveis originais		
U1	+0,0433DPPH	-0,3196 CAT	+0,2927Quel.
V1	+0,5971Fen.	+0,0309Flavo.	-0,0058 Dih.
U2	-0,6801DPPH	-2,4212 CAT	-0,0343 Quel
V2	+0,5739Fen	-0,1606Flavo.	-0,0060Dih.

No gráfico 3 a primeira dimensão mostra que o CAT e os fenóis totais foram os responsáveis pela alta relação entre os métodos de quantificação de compostos fenólicos e os antioxidantes, já na segunda dimensão foi o poder quelante de íons ferro II (Fe^{2+}). Ambos os métodos contribuíram mais de 50% para este resultado.

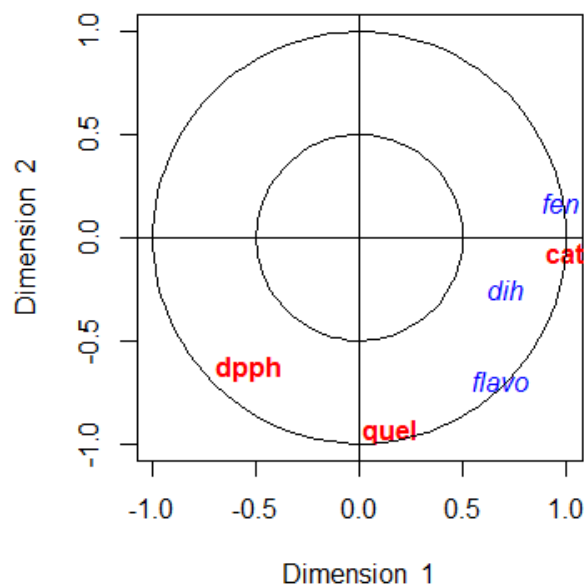


Gráfico 3 Análise multivariada de dados recorrendo aos métodos de análise das variáveis canônicas de *P. oleracea*

Observou-se uma alta correlação entre os métodos de quantificação de compostos fenólicos e os antioxidantes, sendo no primeiro par de variáveis canônicas de 0,9806 e no segundo par de 0,6625 para a *R. raphanistrum*, sendo

que essas duas correlações foram estatisticamente significativas pelo teste F sequencial (Tabela 8).

Tabela 8 Teste F sequencial

Correlação para as variáveis canônicas	Valor de P. do teste de F sequencial
0,9806	0,0001
0,6625	0,005
0,5247	0,0210

Na Tabela 9 é apresentado os coeficientes dos dois primeiros pares de variáveis canônicas.

Tabela 9 Resultados das correlações canônicas

Pares de variáveis canônicas	Variáveis originais		
U1	-1,4455DPPH	-1,8064 CAT	+0,1105 QUEL.
V1	+0,1303 Fen.	-0,1675 Flavo.	-0,1476 Dih.
U2	-08260 DPPH	+0,3493 CAT	-0,4342 Quel.
V2	-0,3598 Fen.	-0,0147 Flavo.	-0,2171 Dih.

No gráfico 2 a primeira dimensão mostra que o CAT e o dihidroflavonoide foram os responsáveis pela alta relação entre os métodos de quantificação de compostos fenólicos e os antioxidantes, já na segunda dimensão foi o poder quelante.

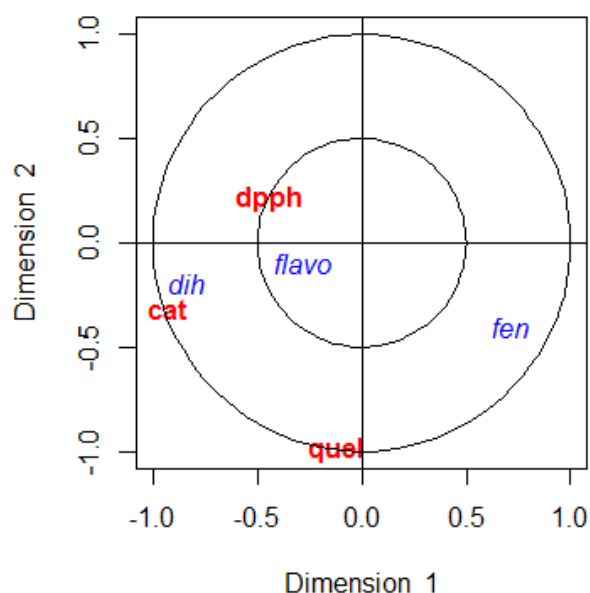


Gráfico 4 Análise multivariada de dados recorrendo aos métodos de análise das variáveis canônicas de *R. raphanistrum*

A correlação entre compostos fenólicos e o potencial antioxidante pode estar relacionada ao método escolhido, à polaridade da substância (hidrofóbicas e hidrofílicas) e aos antioxidantes testados (ROESLER et al., 2007).

A análise de correlação canônica aplicada em uvas, bagaço de azeitona e vinhos mostrou uma correlação entre a capacidade antioxidante (glutaciona redutase e glutaciona peroxidase) e os fenóis (LINGUA et al., 2016). Costa et al. (2016) também verificaram por meio da análise de correlação canônica uma alta relação entre os fenóis totais e os antioxidante para a espécie *Amorphophallus paeoniifolius* (Flor Cadáver).

CONCLUSÃO

Por meio deste trabalho, foi observado que os extratos aquosos demonstraram o maior rendimento extrativo em ambas as plantas. Na análise de correlação canônica as duas espécies estudadas apresentaram uma alta correlação entre os compostos fenólicos e os antioxidantes.

Dos extratos obtidos das folhas secas de *P. oleracea* e *R. raphanistrum* somente o hexano não apresentou resultados significativos nos ensaios de quantificação de compostos fenólicos totais e antioxidante.

O melhor ensaio para identificação da atividade antioxidante para *R. raphanistrum* foi o poder quelante obtido através dos extratos aquosos.

No poder redutor o extrato de butanol da *P. oleracea* demonstrou efeito antioxidante comparado com o padrão e as amostras.

Os resultados desse trabalho indicaram a atividade antioxidante *in vitro* de *P. oleracea* e *R. raphanistrum*.

REFÊRENCIA

- AGARWAL, K.; VARMA, R. antioxidant ability of some common indian vegetables. **Journal of Young Pharmacists**, Semeling, v. 7, p. 262-266, July/Sept. 2015.
- AHMED, D.; KHAN, M. M.; SAEED, R. Comparative analysis of phenolics, flavonoids, and antioxidant and antibacterial potential of methanolic, hexanic and aqueous extracts from *Adiantum caudatum* leaves. **Antioxidants**, Basel, v. 4, p. 394-409, 2015.
- AHN, M. R. et al. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. **Food Chemistry**, Barking, v. 101, n. 4, p. 1383–1392, Mar. 2007.
- ALAM, M. A. et al. Evaluation of antioxidant compounds, antioxidant activities, and mineral composition of 13 collected purslane (*Portulaca oleracea* L.) Accessions. **BioMed Research International**, Cairo, v. 1, p.1-10, 2014b.
- ALAM, M. A. et al. Genetic improvement of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) and its future prospects. **Molecular Biology Reports**, Basel, v. 41, p. 7395-7411, Nov. 2014a.
- ANDERSEN, O. M.; MARKHAN, K. R. **Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications**. New York: Taylor & Francis, 2006, p. 1197.
- BAKKIYARAJ, S.; PANDIYARAJ, S. Evaluation of potential antimicrobial activity of some medicinal plants against common food-borne pathogenic microorganism. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, Jalagaon, v. 2, n. 2, p. 484-491, Apr./June 2011.
- BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, mar. 2014.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25–30, June 1995.
- CONFORTI, F. et al. Bioactive phytonutrients (omega fatty acids, tocopherols, polyphenols), in vitro inhibition of nitric oxide production and free radical

scavenging activity of non-cultivated Mediterranean vegetables. **Food Chemistry**, Barking, v. 129, p. 1413–1419, 2011.

CONFORTI, F. et al. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 116, p. 144–151, 2008.

COSTA, A. S. G. et al. Improving bioactive compounds extractability of *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 79, p. 180–187, 2016.

ERKAN, N. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. **Food Chemistry**, Barking, v. 133, n. 3, p. 775–781, Aug. 2012.

FERREIRA, D. F. **Estatística multivariada**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2011. 675 p.

HUANG, C. H. et al. Resolution of brassicaceae phylogeny using nuclear genes uncovers nested radiations and supports convergent morphological evolution. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 33, n. 2, p. 394–412, 2016.

KÜÇÜKBOYACI, N. et al. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous extract from *Raphanus raphanistrum* L. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, Istanbul, v. 9, n.1, p. 93–100, 2012.

KUMAR, B. S. A. et al. Pharmacognostical studies of *Portulaca oleracea* Linn. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 527–531, Oct./Dec. 2008.

LIM, Y. Y; QUAH, E. P. L. Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. **Food Chemistry**, Barking, n. 103, p. 734–740, 2007.

LINGUA, M. S. et al. In vivo antioxidant activity of grape, pomace and wine from three red varieties grown in Argentina: its relationship to phenolic profile. **Journal of Functional Foods**, Oxford, v. 20, p. 332–345, 2016.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativa e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1991. 440 p.

MALIK, M. S. et al. Glucosinolate profile variation of growth stages of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 6, p. 3309–3315, 2010.

MASOODI, M. H. *Portulaca oleracea* L. a review. **Journal of Pharmacy Research**, New Delhi, v. 4, n. 9, p. 3044-3048, Sept. 2011.

MIGUEL, M. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, Washington, v. 15, n. 12, p. 9252-9287, Dec. 2010.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 2B, p. 553-556, abr./jun. 2009.

OYAIZU, M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. **Japanese Journal of Nutrition**, Tokyo, v. 44, n. 6, p. 307–315, May 1986.

PEKSEL, A.; ARISAN-ATAC, I.; YANARDAG, R. Antioxidant activities of aqueous extracts of purslane (*Portulaca oleracea* Subsp. sativa L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 18, n. 3, p. 295-308, 2006.

POPOVA, M.; BANKOVA, V.; BUTOVSKA, D. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemistry Analysis**, Chichester, v. 15, n. 4, p. 235–240, July/Aug. 2004.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analysis Biochemistry**, Oxford, v. 269, n. 2, p. 337-341, June 1999.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 27, n.1, p. 53-60, jan./mar. 2007

SANCHEZ-LEON, G. et al. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanus raphanistrum* L. sobre tres hongos fitopatógenos. **Bioagro**, Viçosa, MG, v. 27, n.1, p. 3-10, abr. 2015.

SANTOS, C. M. et al. Atividade antioxidante de frutos de quatro cultivares de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 339-344, jun. 2013.

SHANKER, N.; DEBNATH, S. Impact of dehydration of purslane on retention of bioactive molecules and antioxidant activity. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 52, n. 10, p. 6631-6638, Oct. 2015.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. 1104 p.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 28, n. 1, p. 49-55, Mar. 1977.

THE LOCAL FOOD-NUTRACEUTICALS CONSORTIUM. Understanding local Mediterranean diets: a multidisciplinary pharmacological and ethnobotanical approach. **Pharmacological Research**, London, v. 52, p. 353-366, 2005.

VIEIRA, L. M. et al. Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). Rev. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 17, n. 4, p. 521-527, 2015.

WARWICK, S. I.; FRANCIS, A. The biology of Canadian weeds. 132. *Raphanus raphanistrum*. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 85, p. 709-733, 2005.

XU, X.; YU, L.; CHEN, G. Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 493-499, May 2006.

ZHOU, Y. X. et al. *Portulaca oleracea* L.: A Review of Phytochemistry and Pharmacological Effects. **BioMed Research International**, Cairo, v. 1, p. 1-11, 2015.

ARTIGO 2 EFEITO ALELOPÁTICO *in vitro* DE NABIÇA (*Raphanus raphanistrum* L.) SOBRE A ALFACE

Maria de Fátima Santos⁴

Adenilson Henrique Gonçalves⁵

Suzan Kelly Vilela Bertolucci⁶

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme orientação do Manual de Normalização da UFLA.

⁴ Mestranda no Programa de Pós-graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares pela Universidade Federal de Lavras – UFLA.

⁵ Prof.^o Dr. do Departamento de Agricultura, DAG – Universidade Federal de Lavras – UFLA.

⁶ Prof.^a Dra. do Departamento de Agricultura, DAG – Universidade Federal de Lavras – UFLA.

RESUMO

Os aleloquímicos liberados pelas plantas no ambiente podem influenciar de forma direta ou indireta no desenvolvimento de espécies que se encontram ao seu redor, este processo é denominado alelopatia. Objetivou-se avaliar o potencial alelopático de diferentes extratos obtidos das folhas secas de *Raphanus raphanistrum* (nabiça) sobre a germinação e o crescimento de plântulas de alface *in vitro*. Os extratos foram preparados por refluxo em água ultrapura e maceração dinâmica utilizando solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura). Após filtragem a vácuo foi medido o pH dos extratos, em seguida, diluídos em água ultrapura de modo a obter-se quatro concentrações (2, 4, 6 e 8 g.L⁻¹). Para o bioensaio de germinação foram utilizadas 25 sementes de alface, sendo umedecidas com 4 mL dos extratos (diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura) e mantidas em estufa tipo BOD com temperatura a 24°C com fotoperíodo de 12 horas, onde foram avaliados o índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, crescimento radicular e hipocótilo. Os extratos aquosos obtidos por maceração e refluxo apresentaram efeito alelopático a partir das menores concentrações, sendo que, no extrato aquoso por maceração na maior concentração (10 g.L⁻¹) inibiu total a germinação das sementes de alface. Os extratos obtidos a partir dos solventes diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura influenciaram no desenvolvimento das plântulas da espécie testes, onde o extrato aquoso foi capaz de inibir mais de 50% o crescimento da radicular.

Palavra-chave: Nabiça. Aleloquímicos. *Lactuca sativa*. Maceração.

ABSTRACT

The allelochemicals released by plants in the environment can influence directly or indirectly in the development of species that are around you, this process is called allelopathy. This study aimed to evaluate the allelopathic potential of different extracts from the dried leaves of *Raphanus raphanistrum* (turnip) on the germination and growth of in vitro lettuce seedlings. The extracts were prepared by refluxing in ultrapure water and dynamic maceration using increasingly polar solvents (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, butanol and ultrapure water). After vacuum filtration was measured pH of the extracts, then diluted with ultrapure water so as to obtain four concentrations (2, 4, 6, 8 g.L⁻¹). For the germination bioassay were used 25 seeds, being moistened with 4 ml of the extracts (dichloromethane, ethyl acetate, butanol and ultrapure water) and maintained in the greenhouse BOD with temperature at 24 ° C with 12 hours photoperiod were evaluated in the germination speed index (GSI), germination percentage (% G), dry matter, root growth and hypocotyl. The aqueous extracts obtained by maceration and reflux showed allelopathic effect from lower concentrations, and in the aqueous extract by steeping in the highest concentration (10 g.L⁻¹) inhibited the total germination of lettuce seeds. The extracts obtained from the dichloromethane solvent, ethyl acetate, butanol and ultrapure water influenced the development of the seedlings of the test species, wherein the aqueous extract was able to inhibit more than 50% of root growth.

Keyword: Wild radish. Chemicals. *Lactuca sativa*. Maceration.

1 INTRODUÇÃO

O termo alelopatia foi descrita pelo pesquisador Molisch em 1937, onde a palavra derivada do grego significa *allelon* (mútuo) e *pathós* (prejuízo ou sofrer) (FERREIRA; AQUILA, 2000). O termo alelopatia define-se como o efeito benéfico ou prejudicial de compostos químicos (aleloquímicos) liberados pelas plantas no ambiente sobre espécies vizinhas (BORELLA et al., 2009).

Os aleloquímicos podem variar de acordo com a composição, concentração e destruição na planta. Esses compostos químicos podem ser liberados para o meio ambiente de diversas maneiras, tais como: decomposição de resíduos vegetais, exsudação pelas raízes, volatização e lixiviação da superfície foliar através da chuva e/ou neblina (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2005). Também podem interferir de várias maneiras o metabolismo das plantas, atuando sobre hormônios, respiração, na fotossíntese, abertura dos estômatos, síntese de proteína, inibição do transporte de membrana, da atividade enzimática e além de provocar alteração no material genético (SPIASSI et al., 2015; TURNES et al., 2014).

Diante da preocupação com o meio ambiente as substâncias com atividade alelopática tem chamado bastante atenção na agricultura, pois vem sendo utilizada no combate das plantas daninhas. Além de ser natural, é um método barato, não poluente, e não requer equipamentos sofisticados para sua aplicação (OLIVEIRA et al., 2015).

Raphanus raphanistrum L. vulgarmente conhecido como nabiça, rabanete-de-cavalo, saramago e nabo-bravo, pertence à família Brassicaceae (Cruciferae). É uma planta considerada invasora, de origem Europeia, mas que se encontra espalhada em grande escala na região sul do Brasil. É uma espécie anual, herbácea, com cerca de 50-100 cm de altura, muito ramificada que

apresenta flores de coloração variadas (branco, lilás e amarelo claro) (FERREIRA et al., 2002; LORENZI, 1991; PEREIRA et al., 2014).

Na composição química, encontra-se nesta espécie ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, eicosenóico, erúico, flavonoides (quecertina e canferol) e glicosinolatos (glucoiberina, glucorafanina, gluconapina, glucobrassicina, glucosinalbina, gluconasturtina, progoitrina, glucorafenina, glucoerucina e glucotropaeolina (MALIK et al., 2010; SANCHEZ- LEÓN et al., 2015; WARWICK; FRANCIS, 2005).

Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático de diferentes extratos obtidos das folhas de *R. raphanistrum* sobre a germinação e o crescimento das plântulas de *Lactuca sativa* (alface) *in vitro*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e no Laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal de Lavras (UFLA). O material vegetal de *R. raphanistrum* foi herborizado e encaminhado para classificação botânica para a pesquisadora Andréia Fonseca Silva. O exemplar está depositado sobre o código PAMG 57809 no herbário PAMG, na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG).

2.1 Material vegetal

A planta em estudo foi cultivada em casa de vegetação, sendo semeadas diretamente em vasos de plástico (10 litros) contendo uma mistura de solo e areia (1:1), sendo mantidas em casa de vegetação. A partir 50 a 60 dias após a semeadura, no período da manhã, foi realizada a colheita das folhas. Em seguida, seca em estufa de circulação de ar a $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ até peso constante.

2.2 Obtenção dos extratos

Os extratos de *R. raphanistrum* foram preparados sob refluxo em água e por maceração dinâmica com solventes de polaridades crescentes a 10% (p/v), a partir das folhas secas pulverizadas. A pulverização do material foi feita em micromoinho de facas Marconi[®] modelo MA – 048.

O material vegetal submetido ao refluxo em água permaneceu sob essa condição por 20 minutos após ebulição. O material vegetal submetido à maceração dinâmica em água e com solventes de polaridades crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura) foi macerado por 24 horas sob agitação constante de 146 rpm utilizando Gio Gyrotory Shaber.

Todos os extratos foram filtrados a vácuo e concentrados em evaporador rotatório a 50°C, sob pressão reduzida, até resíduo. Na Figura 1 consta o fluxograma que representa o processo de obtenção dos extratos.

Os extratos foram ressuspensos em água, em seguida aferido o pH com auxílio de pHmetro PG 1800. Os extratos foram diluídos em água ultrapura de modo a obterem-se quatro concentrações (2, 4, 6, 8 g.L⁻¹).

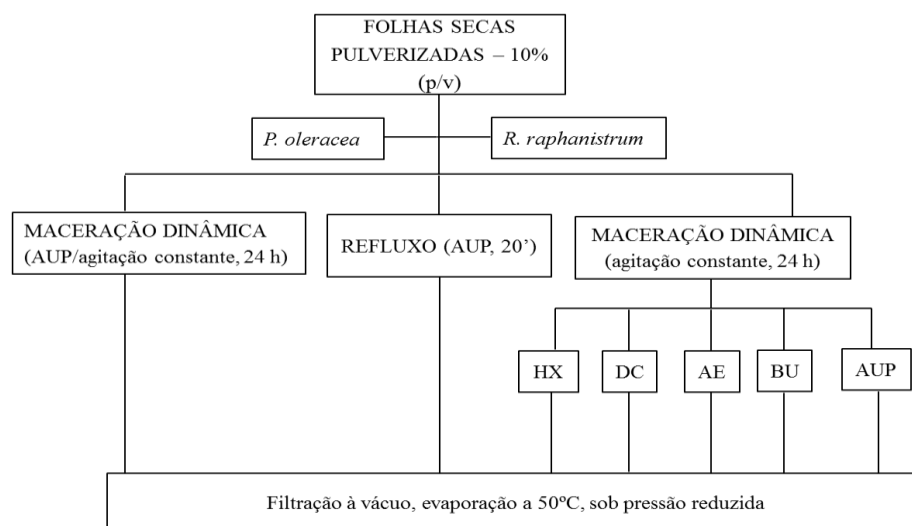


Figura 1 Fluxograma de obtenção dos extratos de *R. raphanistrum*. **HX**: hexano; **DC**: decolorometano; **AE**: acetato de etila; **Bu**: Butanol; **AUP**: água ultrapura

2.3 Bioensaio de germinação

Para o bioensaio de germinação, 4 mL dos extratos aquosos e dos solventes com polaridades crescentes (diclorometano, acetato de etila, butanol) de cada concentração (2, 4, 6, 8, e 10 g.L⁻¹) mais o controle (água ultrapura) foram aplicados sobre a placa de petri com papel filtro contendo 25 sementes de alface. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições.

As placas de petri foram mantidas sobre temperatura constante de 24°C em estufa incubadora para BOD modelo 347 FG com fotoperíodo de 12 horas. A coleta dos dados para os testes de porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) foram obtidos a partir de 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas após aplicação dos extratos.

Índice de Velocidade de Germinação foi calculado pela fórmula de Maguire (1962):

$$IVG = E1/N1 + E2/N2 + En/Nn, \text{ Em que:}$$

E1, E2, En = n° de plântulas emergidas, computadas no primeiro até a última contagem; N1, N2, Nn = n° de dias de semeadura do primeiro a última contagem.

Após 144 horas foram medidos o comprimento radicular e hipocótilo com auxílio de um paquímetro digital (mm), a massa seca da plântula de alface foi determinada utilizando uma estufa de circulação de ar a 40°C por 72 horas.

2.4 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, onde as médias foram comparadas pelo teste *Scott-Knott* com nível de significância de 5% usando-se o programa Sisvar.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

No extrato aquoso obtido pelo o método de maceração (Tabela 1) todas as concentrações (2, 4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹) diferenciaram significativamente do controle na análise do IVG, massa seca, crescimento radicular e hipocótilo. A concentração mais baixa (2 g.L⁻¹) foi capaz de inibir o crescimento da radicular em mais de 50%, onde na maior (10 g.L⁻¹) houve a inibição total da germinação das sementes de alface.

No extrato aquoso por refluxo, as concentrações que mais se diferenciaram em todos os testes em relação ao controle foram de 8 e 10 g.L⁻¹ sendo, a concentração de 10 g.L⁻¹ responsável por inibir totalmente o crescimento radicular e a massa seca da alface. No teste realizado com a radícula da alface a menor concentração (2 g.L⁻¹) foi capaz de inibir mais de 50% o seu crescimento.

Wandscheer e Pastorini (2008), constataram que os extratos aquosos das folhas da nabiça nas concentrações de 5 e 10% apresentaram efeitos alelopáticos sobre a %G, velocidade de germinação, IVG e comprimento radicular de sementes de alface, onde o extrato inibiu mais de 50% a germinação da alface em todas as concentrações (5 e 10%) testadas.

Norsworthy (2003) também constatou que o extrato aquoso de biomassa seca de nabiça influenciou na germinação e crescimento radicular *Sida spinosa* L. (guanxuma-de-espinho), *Ipomoea lacunosa* L. (glória da manhã sem caroço) e *Senna obtusifolia* L. (fedegoso). A guanxuma-de-espinho e a fedegoso foram mais sensíveis ao extrato reduzido mais de 95% o peso fresco comparando com o controle.

Tabela 1 Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, comprimento do hipocótilo e da radicular de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de extratos aquosos de *Raphanus raphanistrum*

TESTES	CONCENTRAÇÃO	EXTRAÇÃO	
		Maceração	Refluxo
IVG	Controle	14,4±0,8Aa	14,4±0,8Aa
	2g.L ⁻¹	9,9±0,5Ab	11,4±1,0Ab
	4g.L ⁻¹	7,1±0,6Ac	7,1±0,4Ac
	6g.L ⁻¹	3,8±0,8Bd	5,1±0,4Ac
	8g.L ⁻¹	0,9±0,2Ae	2,0±0,5Ad
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ae	0,3±0,2Ad
%G	Controle	71,1±3,1Aa	71,1±3,1Aa
	2g.L ⁻¹	66,7±5,6Aa	68,5±4,9Aa
	4g.L ⁻¹	53,1±6,2Ab	52,7±5,9Ab
	6g.L ⁻¹	29,6±5,3Ac	41,6±6,4Ab
	8g.L ⁻¹	6,3±1,6Ad	13,5±3,3Ac
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ad	2,0 ±0,8Ac
Massa seca (mg)	Controle	12,0±0,5Ab	12,0±0,5Aa
	2g.L ⁻¹	15,0±0,7Ba	10,4±0,5Aa
	4g.L ⁻¹	11,6±1,7Ab	10,0±0,5Aa
	6g.L ⁻¹	4,8±1,3Bc	8,8±1,3Aa
	8g.L ⁻¹	3,0±0,6Ac	1,8±1,0Ab
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ae	0,0±0,0Ab
Crescimento do hipocótilo (mm)	Controle	5,9±0,4Ac	5,9±0,3Ab
	2g.L ⁻¹	12,7±0,7Aa	8,6±0,4Ba
	4g.L ⁻¹	10,3±1,2Ab	5,4±0,3Bb
	6g.L ⁻¹	2,2b±0,2Bd	3,9±0,2Ac
	8g.L ⁻¹	0,47±0,1Ae	1,3±0,2Ad
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ae	0,2±0,1Ad
Crescimento Radicular (mm)	Controle	24,0±1,3Aa	24,0±1,3Aa
	2g.L ⁻¹	11,8±0,6Ab	11,5±0,6Ab
	4g.L ⁻¹	4,2±0,3Bc	6,0±0,4Ac
	6g.L ⁻¹	0,1±0,0Bd	3,6±0,2Ad
	8g.L ⁻¹	0,0±0,0Ad	0,7±0,1Ae
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ad	0,03±0,0Ae

Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ao nível de $p \leq 0,05$ segundo o teste de *Scott-Knott*. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração. Média \pm erro padrão onde n para IVG ($n=5$), %G ($n=30$), massa seca ($n=5$), crescimento do hipocótilo e radicular ($n=125$).

No processo de germinação, as sementes podem absorver juntamente com a água substância aleloquímicas responsáveis por inibir ou retardar a

multiplicação ou crescimento celular, podendo também atrasar o processo de germinação (GONZÁLEZ et al., 2002).

Os extratos nas menores concentrações obtidos por maceração (2 e 4 g.L⁻¹) e por refluxo (2 g.L⁻¹) influenciaram no aumento do crescimento do hipocótilo, devido este alongamento o teste da massa seca do extrato aquoso por maceração apresentou um aumento no peso (15,0±0,7 mg) na diluição de 2 g.L⁻¹.

Os compostos com atividade alelopática ao invés de provocar a inibição do desenvolvimento da planta teste pode estimular sua germinação e o crescimento da plântula (GUSMAN et al., 2011). Quando se utiliza substâncias em dose mais baixa pode ativar a germinação e aumentar o tamanho do hipocótilo e/ou radícula, este processo é denominado *hormeses* (SILVA et al., 2012). Comparando os dois métodos de extração, não demonstraram muita interação entre si. Apresentando diferença somente na concentração 6 g.L⁻¹ para o IVG, massa seca, crescimento radicular e do hipocótilo.

Nos extratos com solventes de polaridades crescentes (Tabela 2) o diclorometano diferenciou do controle nas maiores concentrações (8 e 10 g.L⁻¹) no IVG, %G, massa seca e crescimento radicular, já no desenvolvimento do hipocótilo todas as concentrações influenciaram o aumento do seu tamanho.

O acetato de etila influenciou no índice de velocidade de germinação e estimulou o crescimento do hipocótilo na diluição 2 g.L⁻¹, já o butanol nas diluições de 8 e 10 g.L⁻¹ influenciaram no IVG, %G e crescimento radicular. A água ultrapura afetou o desenvolvimento alface em todas as concentrações, sendo as maiores doses as que demonstraram as menores médias, sendo capaz de inibir sua germinação.

Tabela 2 Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca (MS), comprimento do hipocótilo (CH) e da radicular (CR) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de extratos com polaridade crescente

Testes	Conc.	Solventes com polaridade crescente			
		DC	AE	BU	AUP
IVG	Controle	19,1±0,8Aa	19,1±0,8Aa	19,1±0,8Aa	19,1±0,8Aa
	2g.L ⁻¹	19,2±0,8Aa	18,7±0,7Aa	18,5±1,1Aa	10,6±1,1Bb
	4g.L ⁻¹	19,0±1,1Aa	18,4±1,9Aa	16,5±1,4Bb	9,0±0,3Cb
	6g.L ⁻¹	18,9±0,9Aa	17,4±0,8Ab	15,3±1,9Bc	5,4±0,6Cc
	8g.L ⁻¹	16,8±1,6Ab	16,9±1,4Ab	14,0±1,8Bc	4,3±0,4Cc
	10g.L ⁻¹	14,3±1,6Bc	16,6±1,6Ab	12,4±0,9Bd	1,8±0,5Cd
%G	Controle	82,7±1,5Aa	82,7±1,5Aa	82,7±1,5Aa	82,7±1,5Aa
	2g.L ⁻¹	82,4±1,7Aa	82,9±2,2Aa	80,5±2,1Aa	68,0±5,7Bb
	4g.L ⁻¹	82,7±2,4Aa	81,3±2,9Aa	77,0±3,0Aa	64,0±6,0Bb
	6g.L ⁻¹	82,3±2,3Aa	78,3±2,5Aa	74,5±3,6Aa	41,6±6,4Bc
	8g.L ⁻¹	71,3±3,6Ab	77,1±2,7Aa	68,0±3,3Ab	30,4±5,7Bd
	10g.L ⁻¹	71,3±4,1Ab	75,7±2,9Aa	66,8±3,8Ab	11,5±3,2Be
MS (mg)	Controle	17,9±1,7Aa	17,9±1,7Aa	17,9±1,7Aa	17,9±1,7Aa
	2g.L ⁻¹	17,5±0,5Aa	18,0±1,4Aa	18,8±0,4Aa	15,4±1,0Aa
	4g.L ⁻¹	17,4±0,2Aa	18,2±1,6Aa	18,9±0,6Aa	12,8±0,7Bb
	6g.L ⁻¹	17,4±1,3Aa	16,7±0,8Aa	18,2±1,6Aa	11,8±1,7Bb
	8g.L ⁻¹	14,9±1,4Ab	16,1±1,5Aa	16,2±1,5Aa	9,0±0,4Bc
	10g.L ⁻¹	13,0±1,6Ab	15,7±1,9Aa	15,6±1,4Aa	6,2±1,6Bc
CH (mm)	Controle	7,7±0,4Ab	7,7±0,4Aa	7,7±0,4Aa	7,7±0,4Aa
	2g.L ⁻¹	13,5±0,5Aa	14,7±6,7Ab	5,2±0,2Ba	7,7±0,4Ba
	4g.L ⁻¹	13,3±0,5Aa	7,2±0,2Ba	5,4±0,2Ba	6,5±0,4Ba
	6g.L ⁻¹	13,5±0,5Aa	7,1±0,7Ba	5,6±0,3Ba	3,9±0,3Bc
	8g.L ⁻¹	13,3±0,6Aa	7,9±0,3Ba	5,1±0,3Ba	3,1±0,2Bc
	10g.L ⁻¹	13,7±0,6Aa	7,2±0,4Ba	5,1±0,3Ba	1,0±0,1Cc
CR (mm)	Controle	29,5±1,5Aa	29,5±1,5Aa	29,5±1,5Aa	29,5±1,5Aa
	2g.L ⁻¹	27,2±1,2Ba	28,8±1,3Ba	32,7±1,4Aa	16,6±1,0Cb
	4g.L ⁻¹	26,4±1,2Aa	28,9±1,5Aa	30,2±1,5Aa	7,1±0,4Bc
	6g.L ⁻¹	26,1±1,1Aa	28,2±1,3Aa	29,8±1,3Aa	4,6±0,3Bc
	8g.L ⁻¹	23,3±1,1Bb	27,6±1,2Aa	24,5±1,4Bb	2,5±0,2Cd
	10g.L ⁻¹	23,0±1,1Ab	26,8±1,3Aa	24,6±1,3Ab	0,5±0,1Bd

Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ao nível de $p \leq 0,05$ segundo o teste de Scott-Knott. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração. Média \pm erro padrão onde n para IVG (n=5), %G (n= 30), massa seca (n=5), crescimento do hipocótilo e radicular (n=125). **Conc:** concentrações; **DC:** decolorometano; **AE:** acetato de etila; **Bu:** Butanol; **AUP:** água ultrapura

Comparando os solventes com polaridade crescente no teste do IVG o butanol e a água ultrapura se destacaram, o butanol só não diferenciou do diclorometano e acetato de etila nas concentrações de 2 e 10 g.L⁻¹. No crescimento do hipocótilo os extratos de acetato etila, butanol e água ultrapura também apresentaram variação nos resultados comparando com o diclorometano nas concentrações de 4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹.

Avaliando os dados, a água ultrapura foi a mais eficiente diferenciando dos demais principalmente no teste IVG, %G e crescimento radicular, sendo capaz de reduzir o desenvolvimento da plântula em 50% a partir da concentração 2g.L⁻¹ (IVG e crescimento radicular).

O potencial alelopático identificado nas folhas secas da nabiça pode estar relacionado ao metabólito secundário encontrado na família Brassicaceae denominado glicosinolato, que além da função alelopática também atua como nematicida, fungicida e inseticida (MALIK et al., 2008). Este composto químico pode se transformar em várias outras substâncias, tais como isotiocianatos, fitoalexinas e tiocianatos. Estes compostos em baixa dose podem provocar o atraso na germinação da semente e em altas doses torna-lá inviável (RIZZARDI et al., 2008; SANCHEZ-LEON et al., 2015).

Na análise do pH (Tabela 3), os extratos apresentaram resultados entre 4,85 (butanol) a 6,9 (aquoso obtido por maceração). Logo, o pH não foi o fator de interferência da germinação e desenvolvimento da alface, pois são considerados ideais para a germinação das plantas pH entre 6,0 e 7,5 (LAYNEZ-GARSBALL; MÉNDEZ-NATERA, 2006). Segundo Silveira et al. (2012) o pH pode influenciar na germinação e no crescimento das plântulas quando o extrato se encontra em meio ácido ou alcalino, apresentando efeito negativo no desenvolvimento quando o pH se encontra abaixo de 4 e superior a 10.

Nos testes de alelopatia é importante medir o pH, pois pode-se conter no extrato substâncias como açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que podem

afetar os resultados, devido a possível influência na concentração iônica, sendo osmoticamente ativo (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2012).

Tabela 3 Valores de pH dos extratos da folha de nabiça utilizados nos bioensaios de germinação e crescimento de plântulas de alface

EXTRATOS	pH
Controle	6,23
RMAQ	6,90
RRAUP	5,65
RMDC	6,16
RMAE	5,54
RMBU	4,85
RMAUP	5,93

R: *Raphanus raphanistrum*; **M:** maceração; **R:** refluxo; **AUP:** água ultrapura; **DC:** diclorometano; **AE:** acetato de etila; **BU:** butanol.

Wandscheer e Pastorini (2008), verificaram também que o pH dos extratos aquosos das folhas e raízes da nabiça não influenciaram nos resultados do teste de alelopátia, obtendo se valores de 6,02 a 6,26.

CONCLUSÃO

Os extratos aquosos das folhas secas de *R. raphanistrum* por refluxo e maceração, demonstraram efeito alelopático, a partir das menores concentrações, sendo que maior dose (10 g.L⁻¹) no extrato aquoso por maceração inibiu totalmente a germinação de semente de alface.

Nos extratos preparados a partir do método de maceração utilizando solventes com polaridades crescentes foram capazes de influenciaram a germinação e o crescimento das plântulas de alface, onde o melhor extrato foi o aquoso.

REFERÊNCIAS

- BORRELLA, J. et al. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. Sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 7, n. 3, p. 260-265, jul./set. 2009.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Porto Alegre, v. 12, p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, E. A. et al. Estudos anatômicos de folhas de plantas daninhas. I - *Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, n. 2, p. 159-167, 2002.
- GONZÁLEZ, H. R. et al. Efectos alelopáticos de restos de diferentes espécies de plantas medicinales sobre la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) em condiciones de laboratório. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, La Habana, v. 7, n. 2, p. 67-72, 2002.
- GUSMAN, G. S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringia. Série Botânica**, Porto Alegre, v. 66, n. 1, p. 87-98, jul. 2011.
- LAYNEZ-GARSABALL, J. A.; MÉNDEZ-NATERA, J. R. Efectos de extractos acuosos del follaje del corocillo (*Cyperus rotundus* L.) sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) cv. arapatol s-15. **Idesia**, Arica, v. 24, n. 2, p. 61-75, mayo/agosto 2006.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1991. 440 p.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- MALIK, M. S. et al. Glucosinolate profile variation of growth stages of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 6, p. 3309–3315, 2010.

MALIK, M. S. et al. Use of wild radish (*Raphanus raphanistrum*) and rye cover crops for weed suppression in sweet corn. **Bio One**, Washington, v. 56, n. 4, p. 588-595, 2008.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia, Série Botânica**, Porto alegre, v. 60, n. 1, p. 91-98, jan./jun. 2005.

NORSWORTHY, J. K. Allelopathic potential of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). **Bio One**, Washington, v. 17, n. 2, p. 307-313, 2003.

OLIVEIRA, J. S. et al. Avaliação de extratos das espécies *Helianthus annuus*, *Brachiaria brizantha* e *Sorghum bicolor* com potencial alelopático para uso como herbicida natural. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 17, n. 3, p. 379-384, 2015.

PEREIRA, M. R. R. et al. Estresse hídrico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 687-696, maio/jun. 2014.

RIZZARDI, A. et al. Potencial alelopático de extratos aquosos de genótipos de canola sobre *Bidens pilosa*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 26, n. 4, p. 717-724, 2008.

SANCHEZ-LEON, G. et al. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de dos morfotipos de *Raphanus raphanistrum* L. sobre tres hongos fitopatógenos. **Bioagro**, Viçosa, MG, v. 27, n. 1, p. 3-10, abr. 2015.

SILVA, J. C. et al. Efeito hormese de glyphosate em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 295-302, jul./set. 2012.

SILVEIRA, P. F. et al. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de *Mimosa tenuiflora* (willd.) Poir. na germinação de *Lactuca sativa* L. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 3, p. 472-477, maio/jun. 2012.

SPIASSI, A. et al. Allelopathic effects of pathogenic fungi on weed plants of soybean and corn crops. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 4, p. 1037-1048, July/Aug. 2015.

TUR, C. M.; BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de cinamomo (*Melia azedarach* L. – Meliaceae) sobre a germinação e

crescimento inicial do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. – Solanaceae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 49-56, 2012.

TURNES, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante e alelopática do extrato etanólico e frações das cascas do caule de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam., Rutaceae. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 35, n. 3, p. 459-467, 2014.

WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, L. H. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 949-953, jul. 2008.

WARWICK, S. I.; FRANCIS, A. The biology of Canadian weeds. 132. *Raphanus raphanistrum*. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 85, p. 709-733, 2005.

ARTIGO 3 POTENCIAL ALELOPÁTICO DE BELDROEGA (*Portulaca oleracea* Linn) EM ALFACE

Maria de Fátima Santos⁷
Adenilson Henrique Gonçalves⁸
Suzan Kelly Vilela Bertolucci⁹

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme orientação do Manual de Normalização da UFLA.

⁷ Mestranda no Programa de Pós-graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares pela Universidade Federal de Lavras – UFLA.

⁸ Prof^o. Dr. do Departamento de Agricultura, DAG – Universidade Federal de Lavras – UFLA.

⁹ Prof^a. Dra. do Departamento de Agricultura, DAG – Universidade Federal de Lavras – UFLA.

RESUMO

Alelopatia é uma forma de adaptação química dos vegetais, e quando liberado no meio ambiente pode influenciar de forma positiva ou negativa o crescimento e o desenvolvimento de plantas vizinhas. Objetivou-se avaliar o potencial alelopático de diferentes extratos obtidos das folhas secas de *Portulaca oleracea* (beldroega) sobre a germinação e o crescimento de plântulas de alface *in vitro*. Os extratos foram preparados por refluxo em água ultrapura e maceração dinâmica utilizando solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura). Após filtragem a vácuo foi medido o pH dos extratos, em seguida, diluídos em água ultrapura de modo a obter-se quatro concentrações (2, 4, 6 e 8 g.L⁻¹). Para o bioensaio de germinação foram utilizadas 25 sementes de alface, sendo umedecidas com 4 mL dos extratos e mantidas em estufa tipo BOD com temperatura a 24°C com fotoperíodo de 12 horas, onde foram avaliados o índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, crescimento radicular e hipocótilo. Os extratos aquosos obtidos por refluxo e maceração foram os que apresentaram atividade em todos os testes analisados, porém o extrato obtido pelo método de maceração foi o que demonstrou melhor resultado, inibindo totalmente a germinação nas concentrações de 8 e 10 g.L⁻¹. Dos extratos com polaridades crescentes somente o diclorometano não afetou o desenvolvimento da alface.

Palavras-chave: Beldroega. Aleloquímicos. *Lactuca sativa* L.

ABSTRACT

Allelopathic is a form of chemical adaptation of the plant, and when released into the environment can influence positively or negatively the growth and development of neighboring plants. This study aimed to evaluate the allelopathic potential of different extracts from the dried leaves of *Portulaca oleracea* (purslane) on the germination and growth of in vitro lettuce seedlings. The extracts were prepared by refluxing in ultrapure water and dynamic maceration using increasingly polar solvents (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, butanol and ultrapure water). After vacuum filtration was measured pH of the extracts, then diluted with ultrapure water so as to obtain four concentrations (2, 4, 6, 8 g.L⁻¹). For the germination bioassay were used 25 seeds, being moistened with 4 ml of extract and kept in an incubator BOD with temperature at 24 ° C with a photoperiod of 12 hours, which were evaluated the germination speed index (IVG), percentage of germination (%G), dry matter, root growth and hypocotyl. The aqueous extracts obtained by reflux and maceration showed the activity in all analyzed tests, but the extract obtained by maceration method was demonstrated that the best results, completely inhibiting germination at concentrations of 8 and 10 g.L⁻¹. Extracts with increasing polarities only dichloromethane did not affect the development of lettuce.

Keywords: Purslane. Allelochemical. *Lactuca sativa* L.

1 INTRODUÇÃO

Os vegetais possuem a capacidade de produzir substâncias químicas que podem contribuir para a sua sobrevivência. Estas substâncias são denominadas aleloquímicos (saponinas, taninos, alcaloides, terpenoides, flavonoides entre outros), que são liberados no ambiente por meio de lixiviação, exsudação das raízes, volatilização e decomposição, podendo influenciar direta ou indiretamente no desenvolvimento de outras plantas, este processo é conhecido com alelopatia (CARVALHO et al., 2014).

Os estudos da atividade alelopática são de grande interesse para a agricultura, pois, muitas das substâncias químicas apresentam grande potencial para o uso no controle de plantas daninhas e ainda, possuem a capacidade de inibir a germinação e o crescimento vegetal (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2005), além de ser um método barato, não poluente, e não necessita de equipamentos sofisticados para sua aplicação (CARVALHO et al., 2012).

Portulaca oleracea Linn, é uma espécie cosmopolita, pertencente à família Portulacaceae. Vulgarmente conhecida como beldroega, beldroega-da-horta, beldroega-vermelha, berdoega, caruru-de-porco, ora-pro-nóbis, porcelana, salada-de-negro, caaponga, bredo-de-porco, onze-horas e vergolaga (LORENZI; MATOS, 2008; SHEHATA, 2014). É uma planta herbácea, anual, muito suculenta, apresenta folhas simples compostas quase exclusivamente por tecidos de armazenamento de água e flores amarelas (LORENZI; MATOS, 2008).

A beldroega possui atividade analgésica, hepatoprotetora, antioxidante, cicatrizante, vermífuga, anti-inflamatória, neuroprotetora, emoliente, anticancerígena, antibacteriana, broncodilatadora, antipirética e diurética (KUMAR et al., 2008; MASOODI, 2011).

Esta espécie também apresenta atividade alelopática, sendo observado este efeito no extrato aquoso das sementes, onde nas concentrações 50, 70 e

100% inibem totalmente a germinação da *Cichorium endívia* (chicória) (SHEHATA, 2014). Sendo identificada também a ação antifúngica no extrato aquoso das folhas sobre sementes de *Sorghum vulgare* (sorgo) (DHOLE et al., 2011).

A Triagem fitoquímica de *P. oleracea* mostrou a presença de cumarinas, saponinas, óleos fixos, compostos fenólicos, monoterpene glicosídeo, alcaloides, hidratos de carbono, aminoácidos, esteroides, taninos, mucilagem, ácido oxálico, ácido ascórbico, antraquinona, glutationa, riboflavina, sendo encontrada também a presença de derivados da catecolamina, ácido α -linolênico, β -caroteno, flavonoides (apigenina, kaempferol, luteolina, miricetina e quercetina) (ALAM et al., 2014; BAKKIYARAJ; PANDIYARAJ, 2011; KUMAR et al., 2008; LORENZI; MATOS, 2008; MASOODI, 2011; XU et al., 2006).

Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial alelopático de diferentes extratos obtidos das folhas de *Portulaca oleracea* L. sobre a germinação e crescimento de sementes alface.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e no Laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal de Lavras (UFLA). A espécie em questão está depositada sobre o código PAMG 57858 no herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG).

2.1 Material vegetal

A planta em estudo foi cultivada em casa de vegetação, sendo semeadas diretamente em vasos de plástico (10 litros) contendo uma mistura de solo e areia (1:1), sendo mantidas em casa de vegetação. A partir 75 a 80 dias após a

semeadura, no período da manhã, foi realizada a colheita das folhas. Em seguida, seca em estufa de circulação de ar a $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ até peso constante.

2.2 Obtenção dos extratos

Os extratos das folhas secas pulverizadas de beldroega foram preparados sob refluxo em água e por maceração dinâmica com solventes de polaridades crescentes a 10% (p/v). A pulverização do material foi feita em micromoinho de facas Marconi[®] modelo MA – 048.

O material vegetal submetido ao refluxo em água permaneceu sob essa condição por 20 minutos após ebulição. O material vegetal submetido à maceração dinâmica em água e com solventes de polaridades crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura) por 24 horas sob agitação constante de 146 rpm utilizando Gio Gyrotory Shaber.

Todos os extratos foram filtrados a vácuo e concentrados em evaporador rotatório a 50°C , sob pressão reduzida, até resíduo. Na Figura 1 consta o fluxograma que representa o processo de obtenção dos extratos.

Os extratos secos foram ressuspensos em água ultrapura, somente o extrato hexânico foi ressuspensado no próprio solvente, em seguida foi medido o pH com auxílio de pHmetro PG 1800 (Gehaka). Os extratos foram diluídos de modo a obterem-se quatro concentrações (2, 4, 6, 8 g.L^{-1}).

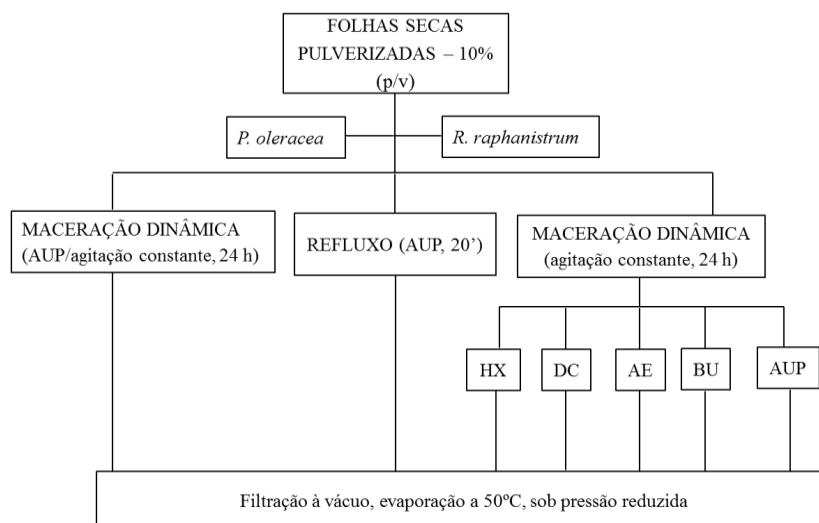


FIGURA 1 Fluxograma de obtenção dos extratos de *P. oleracea*. **HX**: hexano; **DC**: diclorometano; **AE**: acetato de etila; **BU**: butanol; **AUP**: água ultrapura

2.4 Bioensaio de germinação

Para o bioensaio de germinação, 4 mL de extrato de cada concentração (2, 4, 6, 8, e 10 g.L⁻¹) mais o controle (água ultrapura) foram aplicados sobre a placa de petri com papel filtro contendo 25 sementes de alface. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições. As sementes de alface foram utilizadas devido à sensibilidade ao contanto com os aleloquímicos, fácil aquisição, manuseio, germinação rápida e crescimento linear (FORMAGIO et al., 2014).

As placas de petri foram mantidas sobre temperatura constante de 24°C em estufa incubadora para BOD modelo 347 FG com fotoperíodo de 12 horas. A coleta dos dados para os testes de porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) foram obtidos a partir de 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas da aplicação dos extratos. O IVG foi calculado pela fórmula de Maguire (1962).

Após 144 horas foram medidos o comprimento radicular e hipocótilo com auxílio de um paquímetro digital (mm), a massa seca da plântula foi determinada utilizando uma estufa de circulação de ar a 40°C por 72 horas.

2.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, onde as médias foram comparadas pelo teste *Scott-Knott* com nível de significância de 5% usando-se o programa Sisvar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das características avaliadas (%G, IVG, massa seca, crescimento radicular e hipocótilo) os extratos aquosos das folhas secas de beldroega obtidos por refluxo e maceração afetaram negativamente a germinação e o desenvolvimento de sementes de alface (Tabela 1).

O extrato aquoso por maceração inibiu totalmente a germinação da alface nas maiores concentrações (8 e 10 g.L⁻¹), verificando o mesmo para massa seca, crescimento radicular e hipocótilo. O extrato apresentou diferença significativa em relação ao controle para todos os testes a partir da concentração de 2 g.L⁻¹, onde esta baixa dose influenciou mais de 50% o crescimento radicular e hipocótilo.

Tabela 1 Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca, comprimento do hipocótilo e da radicular de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de extratos aquosos de *Portulaca oleracea*

TESTES	CONCENTRAÇÃO	EXTRAÇÃO	
		Maceração	Refluxo
IVG	Controle	22,3±0,3Aa	22,3±0,3Aa
	2g.L ⁻¹	17,5±0,5Bb	20,4±0,4Ab
	4g.L ⁻¹	9,2±0,3Bc	18,5±1,0Ac
	6g.L ⁻¹	4,8±0,8Bd	12,5±0,8Ab
	8g.L ⁻¹	0,0±0,0Be	8,6±0,6Ae
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ae	0,0±0,0Af
%G	Controle	93,2±1,2Aa	93,2±1,2Aa
	2g.L ⁻¹	47,5±7,0Bb	87,1±1,3Aa
	4g.L ⁻¹	35,5±5,9Bc	84,1±3,4Aa
	6g.L ⁻¹	19,3±0,8Bd	77,2±5,7Ab
	8g.L ⁻¹	0,0±0,0Be	62,5±6,4Ac
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ae	0,0±0,0Ad
Massa seca (mg)	Controle	20,0±1,3Aa	20,0±1,3Aa
	2g.L ⁻¹	16,0±1,3Bb	20,0±0,5Aa
	4g.L ⁻¹	16,0±0,8Ab	18,0±1,1Aa
	6g.L ⁻¹	10,0±1,0Bc	16,0±0,4Ab
	8g.L ⁻¹	0,0±0,0Bd	12,0±1,2Ac
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ad	0,0±0,0Ad
Crescimento do hipocótilo (mm)	Controle	17,0±0,6Aa	17,0±0,6Aa
	2g.L ⁻¹	5,4±0,3Bb	11,9±0,4Ab
	4g.L ⁻¹	3,9±0,2Bc	10,6±0,3Ac
	6g.L ⁻¹	2,2±0,2Bd	8,8±0,3Ad
	8g.L ⁻¹	0,0±0,0Be	5,9±0,2Ae
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ae	0,0±0,0Af
Crescimento Radicular (mm)	Controle	28,6±1,2Aa	28,6±1,2Aa
	2g.L ⁻¹	12,1±0,9Ab	11,5±0,5Ab
	4g.L ⁻¹	3,5±0,2Bc	7,9±0,4Ac
	6g.L ⁻¹	1,0±0,1Ad	2,1±0,1Ad
	8g.L ⁻¹	0,0±0,0Ad	0,9±0,1Ae
	10g.L ⁻¹	0,0±0,0Ad	0,0±0,0Ae

Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ao nível de $p \leq 0,05$ segundo o teste de *Scott-Knott*. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração. Média \pm erro padrão onde n para IVG ($n=5$), %G ($n=30$), massa seca ($n=5$), crescimento do hipocótilo e radicular ($n=125$).

No extrato aquoso por refluxo a germinação e o desenvolvimento das sementes de alface foram inibidas totalmente na concentração de 10 g.L⁻¹. O extrato apresentou diferença significativa do controle na concentração de 2 g.L⁻¹ para o crescimento radicular e hipocótilo; na concentração de 4 g.L⁻¹ para IVG. Na % G e massa seca demonstraram diferenças na concentração de 8 g.L⁻¹.

Estes resultados comprovam a atividade alelopática da beldroega principalmente na concentração 10 g.L⁻¹ dos extratos obtidos pelos métodos de maceração e refluxos sobre a germinação de sementes de alface.

No trabalho realizado por Dhole et al. (2011), os autores observaram que o extrato aquoso da folha de *P. oleracea* possui atividade antifúngica em sementes de *Sorghum vulgare* Pers. (sorgo), entretanto em concentrações 2, 4, 6, 8 e 10% a espécie apresenta efeito estimulante na germinação de sementes e no crescimento das plântulas.

Shehata (2014) verificou que o extrato aquoso da semente de beldroega em baixas concentrações (10 e 25%) estimulou a germinação e o crescimento radicular das sementes de *Cichorium endívia* (chicória), já em altas doses (50, 75 e 100%) houve influência negativa no desenvolvimento das sementes.

Esta atividade alelopática pode estar relacionada aos aleloquímicos presentes na beldroega sendo, flavonoides (apigina, canferol, luteolina, miricetina e quercetina), cumarinas, saponinas, monoterpene glicosídeo, alcaloides, esteroides e taninos (KUMAR et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; TEIXEIRA; CARVALHO; BRODELIUS, 2010; XU et al., 2006).

Oliveira et al. (2009) identificaram a presença de cinco ácidos orgânicos (aconítico, cítrico, fumárico, málico e ácido oxálico) e compostos fenólicos (3-cafeoilquínico e 5-cafeoilquínico) no extrato aquoso das folhas de beldroega.

Estas substâncias são inibidoras no processo de germinação e crescimento, pois influência na divisão, permeabilidade da membrana celular e na ação enzimática (ROSADO et al., 2009).

Comparando os métodos de extração pode-se verificar que a maceração foi o mais eficiente na atividade alelopática, apresentando diferença significativa nas concentrações de 2, 4, 6 e 8 g.L⁻¹ nos testes de IVG, %G e crescimento radicular em relação ao método de refluxo.

Técnicas que utilizam solventes em estado de ebulição, dependendo da temperatura e tempo de extração podem se tornar menos eficientes devido ao fato de muitas substâncias serem instáveis a temperaturas altas (SIMÕES et al., 2007)

Nos testes apresentados na Tabela 2 observa-se, utilizado solventes com polaridade crescente somente o hexano, acetato de etila nas concentrações de 6, 8 e 10 g.L⁻¹ e água ultrapura nas concentrações de 2 a 10 g.L⁻¹ influenciaram na germinação de sementes; em relação ao crescimento do hipocótilo o hexano (2 a 10 g.L⁻¹) e água ultrapura (8 e 10 g.L⁻¹) inibiram o desenvolvimento da alface já no crescimento radícula foi influenciado pelo acetato de etila (4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹), butanol (2 a 10 g.L⁻¹) e a água ultrapura (2 a 10 g.L⁻¹).

O extrato de diclorometano não se diferenciou significativamente do controle em relação a cada concentração (2, 4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹) em todos os testes realizados.

Shehata (2014) observou que o extrato de acetato de etila das sementes de beldroega levou a uma inibição no crescimento radicular das plântulas de alface, resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho com o mesmo extrator.

Comparando os solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e água ultrapura) em relação às concentrações em cada teste, o extrato aquoso foi o que mais se diferenciou entre os demais solventes, apresentado as menores medias no IVG, % G e crescimento radicular na concentração de 10 g.L⁻¹.

Tabela 2 Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%G), massa seca (MS), comprimento do hipocótilo (CH) e da radicular (CR) de sementes de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de extratos com polaridades crescentes

Testes	Conc.	Solventes com polaridade crescente				
		HX	DC	AE	BU	ÁUP
IVG	Controle	20,1±2,2Aa	22,5±0,4Aa	20,9±1,0Aa	21,3±0,2Aa	22,0±0,7Aa
	2g.L ⁻¹	20,1±1,1Aa	22,5±0,4Aa	20,7±1,4Aa	20,9±0,8Aa	19,4±0,9Ab
	4g.L ⁻¹	18,7±1,6Ba	22,8±0,5Aa	20,8±0,5Aa	21,2±0,3Aa	16,3±1,9Cc
	6g.L ⁻¹	17,2±1,4Bb	21,8±0,7Aa	18,8±1,4Bb	19,6±0,9Ba	13,3±1,5Cd
	8g.L ⁻¹	17,8±1,4Bb	20,5±1,1Aa	17,9±1,3Bb	19,0±0,8Ba	10,2±0,5Ce
	10g.L ⁻¹	15,9±1,6Bb	20,4±0,5Aa	18,9±2,2Ab	19,6±1,1Aa	6,6±0,4Cf
%G	Controle	82,8±2,8Aa	93,3±0,9Aa	88,5±1,6Aa	91,6±1,4Aa	87,7±2,2Aa
	2g.L ⁻¹	86,4±1,9Aa	93,8±0,9Aa	88,7±2,2Aa	87,1±1,3Aa	85,6±2,2Aa
	4g.L ⁻¹	84,4±2,7Aa	92,1±0,8Aa	88,7±1,7Aa	87,0±2,1Aa	81,2±4,1Aa
	6g.L ⁻¹	79,0±2,7Ba	92,0±1,4Aa	84,4±3,0Ab	86,4±2,2Aa	76,5±5,3Bb
	8g.L ⁻¹	79,1±2,4Aa	89,5±2,0Aa	82,3±2,3Ab	84,4±1,8Aa	70,3±6,3Bb
	10g.L ⁻¹	77,7±3,8Aa	87,6±1,6Aa	78,9±2,5Ab	82,8±2,0Aa	50,1±6,5Bc
MS (g)	Controle	15,4±0,7Aa	16,0±0,6Aa	16,8±0,6Aa	18,2±0,6Aa	16,2±0,5Aa
	2g.L ⁻¹	15,3±1,0Aa	17,0±0,4Aa	15,4±1,0Aa	15,9±0,5Aa	16,7±0,4Aa
	4g.L ⁻¹	14,5±1,4Aa	17,0±0,5Aa	14,8±0,9Aa	15,7±0,2Aa	15,8±0,5Aa
	6g.L ⁻¹	16,0±0,7Aa	17,7±0,7Aa	15,7±0,3Aa	15,2±0,7Aa	15,7±1,1Aa
	8g.L ⁻¹	14,7±1,3Aa	17,3±0,9Ba	14,8±1,1Aa	15,1±0,8Aa	15,1±0,5Aa
	10g.L ⁻¹	14,7±1,5Ba	17,6±0,6Aa	16,4±1,5Aa	15,1±1,0Aa	13,5±0,5Bb
CH (mm)	Controle	10,6±4,7Ab	12,4±0,4Aa	5,8±0,2Ba	11,5±0,8Aa	11,5±0,6Aa
	2g.L ⁻¹	6,8±0,3Ba	12,7±0,3Aa	5,3±0,2Ba	10,2±0,4Aa	11,9±0,4Aa
	4g.L ⁻¹	5,3±0,2Ba	12,3±0,5Aa	5,6±0,2Ba	10,4±0,4Aa	11,9±0,5Aa
	6g.L ⁻¹	5,1±0,2Ba	12,4±0,4Aa	5,6±0,2Ba	10,6±0,5Aa	11,9±0,5Aa
	8g.L ⁻¹	5,0±0,2Ba	11,4±0,2Aa	5,0±0,2Ba	10,6±0,5Aa	9,3±0,3Ab
	10g.L ⁻¹	6,5±0,3Ca	12,6±0,4Aa	5,8±0,2Ca	9,8±0,4Ba	6,7±0,3Cb
CR (mm)	Controle	32,1±1,4Ba	37,5±1,3Aa	37,8±1,6Aa	33,1±1,1Ba	31,7±1,1Ba
	2g.L ⁻¹	31,3±1,4Ba	36,9±1,1Aa	36,6±1,4Aa	24,3±0,9Cb	18,1±1,1Db
	4g.L ⁻¹	31,5±1,2Ba	36,4±1,2Aa	32,1±1,2Bb	25,9±1,0Cb	10,0±0,4Dc
	6g.L ⁻¹	31,4±1,3Ba	36,6±1,2Aa	30,4±1,4Bb	24,3±0,8Cb	9,9±0,5Dc
	8g.L ⁻¹	31,4±1,5Ba	36,3±1,6Aa	23,2±1,1Cc	23,9±1,0Cb	3,8±0,2Dd
	10g.L ⁻¹	30,4±1,5Ba	37,4±1,2Aa	24,3±0,9Cc	25,3±1,0Cb	2,7±0,2Dd

Médias seguidas de mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ao nível de $p \leq 0,05$ segundo o teste de *Scott-Knott*. Letras minúsculas se referem às concentrações e maiúsculas aos métodos de extração. Média \pm erro padrão onde n para IVG ($n=5$), %G ($n=30$), massa seca ($n=5$), crescimento do hipocótilo e radicular ($n=125$).

O extrato aquoso pode ter se destacado, pois a água é capaz de extrair substâncias como saponinas, taninos e alcaloides (SIMÕES et al., 2007). Estes metabolitos secundários podem atuar de várias maneiras como, as saponinas diminuem a permeabilidade de oxigênio no tegumento da semente; uma variedade de taninos inibe a ação das giberelinas (LAYNEZ-GARSABALL; MENDEZ-NATERA, 2006; SOUZA FILHO; ALVES, 2002).

Os alcaloides podem atuar como substâncias de defesa contra insetos herbívoros, hormônios reguladores de crescimento e apresentam a capacidade de inibir a germinação (GOETZE; THOME, 2004; SOUZA FILHO; TREZZI; INOUE, 2011).

No teste de alelopatia faz se necessária a identificação de pH, pois o extrato vegetal pode apresentar substâncias que afetam o resultado, como açúcar, ácidos orgânicos e aminoácidos, os quais influenciam na concentração iônica e são osmoticamente ativos (TUR; BORELLA; PASTORINI, 2012).

Os pH dos extratos apresentaram valores entre 8,13 a 4,0. Sendo os extratos aquosos os que mais demonstraram atividade alelopática não exibem diferença marcante entre o controle. Logo, o pH não foi o fator de interferência da germinação e desenvolvimento de sementes de alface.

De acordo com Laynez-Garsaball e Mendez-Natera (2006), são considerados ideais para a germinação pH em torno de 6,0 a 7,5. Segundo Wagner Júnior et al. (2007) valores de pH menores que 3,0 e superiores a 8,0 podem influenciar na inibição do processo de germinação. O pH pode afetar a germinação e o crescimento das plântulas quando estas se encontram extremamente em meio alcalino ou ácido (CORSATO et al., 2010).

Tabela 3 Valores de pH dos extratos da folha de beldroega utilizados nos bioensaios de germinação e crescimento de plântulas de alface

EXTRATOS	pH
Controle	6,23
PMAQ	6,04
PRAUP	6,07
PMHX	7,35
PMDC	8,13
PMAE	5,1
PMBU	4,0
PMAUP	6,02

P: *Portulaca oleracea*; **M:** maceração; **R:** refluxo; **AUP:** água ultrapura; **HX:** hexano; **DC:** diclorometano; **AE:** acetato de etila; **BU:** butanol.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicaram que os extratos das folhas secas de *P. olerace* preparado a partir dos solventes hexano, acetato de etila, butanol e água ultrapura influenciaram a germinação e o crescimento das plântulas de alface.

Os extratos aquosos por refluxo e maceração apresentaram efeito alelopático, onde concentração de 10 g.L⁻¹ inibiu totalmente a germinação. Sendo, o método de maceração o mais eficiente.

REFERÊNCIAS

- ALAM, M. A. et al. Genetic improvement of Purslane (*Portulaca oleracea L.*) and its future prospects. **Molecular Biology Reports**, Basel, v. 41, p. 7395-7411, 2014.
- BAKKIYARAJ, S.; PANDIYARAJ, S. Evaluation of potential antimicrobial activity of some medicinal plants against common food-borne pathogenic microorganism. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, Jalagaon, v. 2, n. 2, p. 484-491, 2011.
- CARVALHO, W. P. et al. Alelopatia de adubos verdes sobre feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris L.*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 10, n. 1, p. 86-93, 2012.
- CARVALHO, W. P. et al. Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a Germinação e crescimento inicial de alface. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 1-11, 2014.
- CORSATO, J. M. Efeito alelopático do extrato aquoso de folhas de girassol sobre a germinação de soja e picão-preto. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 353-360, 2010.
- DHOLE, J. A. et al. Allelopathic effect of aqueous extract of five selected weed species on seed mycoflora, seed germination and seedling growth of *Sorghum vulgare* Pers. (Jawar). **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, Warszawa, v. 2, n. 3, 142-148, 2011.
- FORMAGIO, A. S. N. et al. Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 30, n. 2, p. 629-638, 2014.
- GOETZE, M.; THOMÉ, G. C. H. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 43-50, 2004.
- KUMAR, B. S. A. et al. Pharmacognostical studies of *Portulaca oleracea* Linn. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 527-531, 2008.
- LAYNEZ-GARSABALL, J. A.; MÉNDEZ-NATERA, J. R. Efectos de extractos acuosos del follaje del corocillo (*Cyperus rotundus L.*) sobre la germinación de

semillas y el crecimiento de plántulas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) cv. arapatol s-15. **Idesia**, Arica, v. 24, n. 2, p. 61-75, mayo/agosto 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativa e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. **Iheringia. Série Botânica**, Porto Alegre, v. 60, n. 1, p. 91-98, 2005.

MASOODI, M. H. *Portulaca oleracea* L. a review. **Journal of Pharmacy Research**, New Delhi, v. 4, n. 9, p. 3044-3048, 2011.

OLIVEIRA, I. et al. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. **Microchemical Journal**, New York, v. 92, n. 2, p. 129-134, 2009.

ROSADO, L. D. S. et al. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjeriço “Maria Bonita” na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.

SHEHATA, H. F. Allelopathic potential of *Portulaca oleracea* L. seed extracts on germination and seedling growth of *Cichorium endivia* L., *Lactuca sativa* L., *Echinochloa crus-galli* L., and *Crassica tournefortii* Gouan. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, Polokwane, v. 2, n. 4, p. 388-396, 2014.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGSC, 2007. 1104 p.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 260 p.

SOUZA FILHO, A. P. S.; TREZZI, M. M.; INOUE, M. H. Sementes como fonte alternativa de substâncias químicas com atividade alelopática. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 709-716, 2011.

TEIXEIRA, M. C.; CARVALHO, I. S.; BRODELIUS, M. ω -3 fatty acid desaturase genes isolated from purslane (*Portulaca oleracea* L.): expression in different tissues and response to cold and wound stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 3, p. 1870–1877, 2010.

TUR, C. M.; BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. Alelopatia de extratos aquosos de cinamomo (*Melia azedarach* L.– Meliaceae) sobre a germinação e crescimento inicial do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. – Solanaceae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 49-56, 2012.

WAGNER JÚNIOR, A. et al. Efeito do pH da água de embebição e do trincamento das sementes de maracujazeiro amarelo na germinação e desenvolvimento inicial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1014-1019, 2007.

XU, X. et al. Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 493–499, 2006.