

INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CAMPUS ITAPINA
CURSO SUPERIOR – BACHARELADO EM AGRONOMIA

EMELI RIBEIRO DOS ANJOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ALELOPÁTICO DE FOLHAS DE
ARAÇÁ-BOI**

COLATINA
2022

EMELI RIBEIRO DOS ANJOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ALELOPÁTICO DE
FOLHAS DE ARAÇÁ-BOI**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao componente de TCC do Curso Superior de Agronomia do Instituto Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Graduação em Agronomia.

Professora Orientadora: Carolina Maria Palácios de Souza

Co-orientadora: Irany Rodrigues Pretti

COLATINA
2022

(Biblioteca do Campus Itapina)

A599a Anjos, Emeli Ribeiro dos .

Avaliação do potencial antioxidante e alelopático de folhas de araçá-boi /
Emeli Ribeiro dos Anjos. - 2022.
26 f. : il.

Orientador: Carolina Maria Palácios de Souza
Coorientador: Irany Rodrigues Pretti

TCC (Graduação) Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Itapina,
Agronomia, 2022.

1. Sementes. 2. Eugenia stipitata. 3. Compostos secundários. I. Souza,
Carolina Maria Palácios de . II. Pretti, Irany Rodrigues . III. Título IV. Instituto
Federal do Espírito Santo.

CDD: 634.1

Bibliotecário/a: Débora do Carmo de Souza CRB6-ES nº 031



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO SUPERIOR
INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CAMPUS ITAPINA
Rodovia BR-259, Km 70, Zona Rural, Colatina, CEP 29709-910
Tel (27) 3723-1221 Fax (27) 3723-1244

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

AUTOR: Emeli Ribeiro dos Anjos

ORIENTADORA: Carolina Maria Palácios de Souza

Aprovado pela Banca Examinadora como parte das exigências do componente curricular de Trabalho de Conclusão de Curso, para obtenção do grau de Agrônomo pelo Instituto Federal do Espírito Santo, *Campus Itapina*.

Carolina Maria Palácios de Souza
Presidente da Banca Examinadora

(Res. 1/2020, Art. 19, § 3º)

Irany Rodrigues Pretti
Membro

(Res. 1/2020, Art. 19, § 3º)

Valéria Pancieri Sallin Membro

Colatina (ES), 03 de fevereiro de 2022.

Anexo V da Resolução do Conselho Superior nº 52/2011, de 13/09/2011



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO ESPÍRITO SANTO
Autarquia criada pela Lei nº. 11.892, de 29 de dezembro de 2008

DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE MONOGRAFIA DE ESPECIALIZAÇÃO

Eu **Emeli Ribeiro dos Anjos** aluno(a) do

Curso de **Agronomia**, declaro que a monografia intitulada **Avaliação do potencial antioxidante e alelopático de folhas de araçá-boi** é de minha autoria, em conformidade com a legislação vigente que trata dos direitos autorais.

Colatina , 16 de Fevereiro de 2022.

Emeli R. dos Anjos.

Assinatura do(a) Candidato(a)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus por ter me guiado pelo caminho, me fortalecido nos momentos que temi seguir e por ter colocado pessoas na caminhada junto comigo, que todo esse tempo foi essencial para minha formação.

À minha mãe, padrasto, que muitas vezes foi um pai, e meus irmãos, por todo incentivo, apoio e amor. Até aqui estiveram ao meu lado me dando forças e coragem para seguir, pois não foi fácil, e sei que sozinha não teria chegado onde cheguei.

À minha orientadora e professora, Carolina, que fez parte desse trabalho juntamente comigo. Me incentivando e me corrigindo com todo carinho e atenção.

E, especialmente, à minha coorientadora Irany. Foi através de um estágio no laboratório que tive o prazer de conhece-la e nos tornamos amigas e companheiras nesse trabalho. Muito obrigada pela oportunidade e companheirismo.

Ao meu namorado Maike, que me apoia e me incentiva nos dias mais difíceis de seguir a caminhada, pelo carinho, atenção e, até mesmo, paciência.

Agradeço aos amigos e colegas da faculdade que, de certa forma, contribuíram para que este projeto tivesse sido realizado. Minha amiga Gerliani, pois estivemos juntas por anos, passando juntas os “perrengues” da faculdade. Junto com ela Bruna, Mirela, Diana, Matheus, Valéria, e Gefferson. Meus amigos da vida, que me apoiam e me incentivam, mesmo que apenas de longe, Markelly, Daiany, Leydiane e Bianca.

RESUMO

O araçazeiro é um frutífera originária da Amazônia Ocidental, amplamente difundida e que apesar de seu uso medicinal pouco se sabe sobre a interação da espécie com outros vegetais. A utilização de ensaios biológicos vegetais para o monitoramento da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas têm sido frequentemente incorporado à identificação e monitoramento de substâncias. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático e quantificar grupos de compostos secundários de diferentes tipos de extratos de folhas de araçá-boi (*Eugenia stipitata*). Para o estudo da atividade alelopática foram utilizados extratos foliares aquoso, por infusão e hidroalcolico em três concentrações, sendo: 10, 20 e 40 mg.mL⁻¹ para os extratos aquoso e por infusão, e de 0,5, 1,0 e 2,0 mg.mL⁻¹ para o extrato hidroalcolico. Todos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados foram submetidos à análise estatística através da análise de variância e havendo significância procedeu-se a comparação das médias pelo Teste de Skott-Knott, com nível de significância de 5% no software R *core team* (R, 2021). Para análise dos efeitos alelopáticos foram avaliados o índice de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e índice de alelopatia (IA). A quantificação dos compostos secundários também foi avaliada nesse trabalho. No presente estudo, verificou-se que não há efeito alelopático presente nos extratos aquoso, por infusão e hidroalcolico da folha do araçá-boi, nas condições testadas. O extrato hidroalcolico de *E. stipitata* apresentou os maiores teores de compostos secundários, quais sejam, fenólicos, taninos e flavonoides. A atividade antioxidante avaliada no trabalho foi observada grande variação.

Palavras-chave: sementes, *Eugenia stipitata*, compostos secundários.

ABSTRACT

The araçazeiro-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh) is a fruit native to the Western Amazon, generally cultivated on a small scale in Peru, Bolivia, Ecuador, Colombia and Brazil. The term allelopathy was created in 1937 and means the influence of one individual over another, either harming or favoring the second, and suggests that the effect is carried out by compounds produced by a plant and released into the environment. The use of plant biological assays to monitor the bioactivity of extracts, fractions and compounds isolated from plants has been frequently incorporated into the identification and monitoring of substances. The objective of this work was to evaluate the allelopathic potential and quantify groups of secondary compounds of different types of extracts from leaves of araçá-boi (*Eugenia stipitata*). For the study of allelopathic activity, aqueous and infused leaf extracts were used in three concentrations, namely: 10, 20 and 40 mg.mL⁻¹. To analyze the allelopathic effects, the germination index (G), germination speed index (IVG) and allelopathy index (AI) were evaluated. The quantification of secondary compounds was also evaluated in this work. In the present study, it was found that there is no allelopathic effect present in the aqueous extracts and by infusion of the araçá-boi leaf, under the conditions tested. The hydroalcoholic extract of *E. stipitata* showed the highest levels of secondary compounds, namely, phenolics, tannins and flavonoids. The antioxidant activity evaluated in the work was observed to vary greatly. The hydroalcoholic extract showed 93.3% of antioxidant activity, an index that, despite being statistically different, is very similar to that presented by gallic acid (standard substance).

Keywords: seed, *Eugenia stipitata*, secondary compounds.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
2.1. ARAÇÁ-BOI.....	8
2.2. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	9
2.3. ANTIOXIDANTES.....	9
2.4. ALELOPATIA	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. COLETA DO MATERIAL VEGETAL E PREPARO DOS EXTRATOS.....	12
3.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA	13
3.3. QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS.....	14
3.4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	15
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5. CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1. INTRODUÇÃO

O araçazeiro-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh) é uma frutífera originária da Amazônia Ocidental, geralmente cultivada em pequena escala no Peru, Bolívia, Equador, Colômbia e Brasil. Entre as propriedades biológicas investigadas, destaca-se a atividade antioxidante na eliminação de radicais livres pelo fruto (VIRGOLIN *et al.*, 2017), potencial antimicrobiano do óleo essencial produzido a partir de suas folhas (MEDEIROS *et al.*, 2003) e atividades antimutagênica e antigenotóxica de extratos do fruto, sugerindo que estes podem funcionar como agentes preventivos contra o câncer (NERI-NUMA *et al.*, 2013). Na medicina popular, o araçá-boi é utilizado no tratamento de desordens intestinais e urinárias, além de também aliviar os sintomas do resfriado, o que indica que os compostos bioativos presentes na planta podem ter potenciais benefícios para a saúde humana (FERNÁNDEZ-TRUJILLO *et al.*, 2011).

Os efeitos medicinais das plantas estão diretamente relacionados à produção de metabólitos secundários, o quais desempenham funções ecológicas de proteção contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores e dispersores de sementes, bem como, na competição planta-planta (alelopatia) e simbioses planta-microrganismo (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os metabólitos secundários das plantas são amplamente utilizados pelo homem como aditivos alimentares, aromatizantes, compostos bioquímicos de importância industrial, ou até mesmo fármacos (AKULA, 2011). Desse modo, substâncias antioxidantes que minimizem o risco de desenvolvimento de patologias causadas por estresse oxidativo em sistemas biológicos possuem grande relevância. Apesar de serem muito efetivos e estáveis, os antioxidantes sintéticos apresentam uso restrito em muitos países devido à possibilidade de causarem efeitos indesejáveis em enzimas de vários órgãos humanos e serem prejudiciais à saúde (TIVERON, 2010). Por outro lado, há grande interesse na pesquisa por antioxidantes naturais, que sejam seguros para o consumo humano.

Neste novo olhar sobre o ecossistema, a alelopatia também se torna reconhecida como um importante mecanismo ecológico que influencia a

dominância e sucessão de plantas, formação de comunidades, vegetação, clímax e manejo. Esta interação alelopática é responsável pelo estabelecimento e sobrevivência de certas espécies no meio ambiente e feita por meio de um mecanismo de defesa de plantas cultivadas contra as plantas daninhas. Tudo isso devido ao fato de que elas competem com as culturas por: água, luz, espaço e nutrientes. As plantas cultivadas sofrem interferências de espécies invasoras por meio da alelopatia inibindo germinação, desenvolvimento de plântula e crescimento de plantas o que causará uma diminuição na qualidade e produtividade nas colheitas e aumento nos custos de produção (OLIVEIRA JR; CONSTANTIN, INOUE, 2011).O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante e alelopático dos extratos aquoso, por infusão e hidroalcoólico de folhas do araçá-boi (*Eugenia stipitata*), como também a quantificação dos teores de compostos fenólicos totais, taninos e flavonoides dos extratos de *E. stipitata*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ARAÇÁ-BOI

As plantas são utilizadas pelo homem como medicamentos há milênios. O crescimento da procura por drogas vegetais relaciona-se a vários fatores, como contra-indicações, efeitos colaterais e prejuízos ocasionados pelo uso abusivo e/ou incorreto de medicamentos sintéticos, o fato de camadas da população mundial não ter acesso a este tipo de medicamento e a crença popular de que o natural é inofensivo (RATES, 2001).

Dentre as famílias botânicas reconhecidas por sua importância medicinal, encontra-se a *Myrtaceae*. O uso medicinal das muitas espécies desta família justifica-se pelas diversas atividades comprovadas, como antimicrobiana, antiviral, hipoglicemiante, antioxidante e anticancerígena (SILVA; CASALI, 2000; APEL *et al.*, 2006). Dentre as espécies pertencentes a esta família encontra-se *Eugenia stipitata* (araçá-boi).

O araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh subsp. *sororia* McVaugh, Myrtaceae) é uma espécie frutífera semi-domesticada pelos ameríndios da Amazônia Ocidental, embora pouco conhecida na Amazônia Brasileira (Pinedo *et al.*, 1981; Clement, 1989). É um arbusto bastante ramificado e densamente folhoso, com folhas elípticas e verdeescuras (McVaugh, 1956).

Entre as propriedades biológicas investigadas do araçá-boi, podem-se destacar a atividade antioxidante do fruto (VIRGOLIN *et al.*, 2017), potencial antimicrobiano do óleo essencial produzido a partir de suas folhas (MEDEIROS *et al.*, 2003) e atividades antimutagênica e antígenotóxica de extratos do fruto, sugerindo que estes podem funcionar como agentes preventivos contra o câncer (NERI-NUMA *et al.*, 2013). Na medicina popular, o araçá-boi é utilizado no tratamento de desordens intestinais e urinárias, além de também aliviar os sintomas do resfriado, o que indica que os compostos bioativos presentes na planta podem ter potenciais benefícios para a saúde humana (FERNÁNDEZ-TRUJILLO *et al.*, 2011). Apesar do uso medicinal da espécie, não existem trabalhos que investiguem o potencial antioxidante e de toxicidade das folhas de *Eugenia stipitata*.

2.2. COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos representam grande parte dos antioxidantes isolados de plantas e agem nos organismos vivos por meio de diferentes mecanismos. Dentre estes, podem ser citados: a complexação de íons metálicos, a captura de radicais livres, a decomposição de peróxidos, a inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas e a modulação de vias sinalizadoras celulares (OLIVEIRA *et al.*, 2009). O potencial antioxidante dos compostos fenólicos está diretamente relacionado ao estado de hidroxilação dos seus anéis aromáticos, o que inclui o número e as posições dos grupos hidroxila e glicosilação ou outros substituintes (HUANG; CAI; ZHANG, 2009; OZCAN *et al.*, 2014).

2.3. ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo estes serem enzimáticos ou não enzimáticos (MORAIS *et al.*, 2009). As enzimas antioxidantes removem as espécies reativas de oxigênio, ou seja, são capazes de bloquear a iniciação da oxidação. Já os antioxidantes não enzimáticos são moléculas que interagem com as espécies reativas e são consumidas durante a reação. Os antioxidantes naturais, tais como os compostos fenólicos, e sintéticos são classificados como não enzimáticos (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

A seca é um importante estresse ambiental para o crescimento das plantas que, em última análise, causa a redução do rendimento das culturas em um mundo com aquecimento global, especialmente para culturas comerciais, incluindo arroz, trigo e milho (Furlan, *et al.*, 2016). No entanto, as plantas desenvolveram várias estratégias para minimizar os danos durante as condições de seca (Shah *et al.*, 2017). É demonstrado que o processo chave na resposta fisiológica da planta à seca é a produção de ROS, que causa dano oxidativo progressivo, crescimento atrofiado e eventual morte celular quando o nível de ROS atinge um certo limite (Molassiotis *et al.*, 2016). Nesse sentido, substâncias antioxidantes que minimizam o risco de desenvolvimento de patologias causadas por estresse oxidativo em sistemas biológicos possuem

grande relevância. Apesar de serem muito estáveis, os antioxidantes sintéticos apresentam o uso restrito em muitos países, devido à possibilidade de causarem efeitos indesejáveis em enzimas dos sistemas biológicos. Por outro lado, há grande interesse na pesquisa por antioxidantes naturais, que sejam seguros para o consumo humano (ZANUTTO *et al.*, 2014).

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante *in vitro* de um composto. Dentre estes métodos está o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Os mecanismos envolvidos nesse método de avaliação da atividade antioxidante são baseados em mudanças nos espectros de absorção do radical livre devido a sua redução.

O DPPH é um radical livre estável de cor violeta com absorvância máxima na faixa de 510-520nm. O ensaio é baseado no decréscimo da absorvância da solução contendo o radical na presença de um antioxidante doador de Hidrogênio, devido à formação de uma forma não-radicalar DPPH-H. Com a redução do DPPH, a intensidade da cor da solução diminui tornando-se amarela (RUFINO *et al.*, 2007).

2.4. ALELOPATIA

A utilização de ensaios biológicos vegetais para o monitoramento da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas têm sido frequentemente incorporados à identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas (NOLDIN *et al.*, 2003). Nesse sentido, o teste de alelopatia permite avaliar a toxicidade de uma substância, pois a redução do crescimento da planta é associada a uma forte inibição da mitose e/ou rompimento da estrutura das organelas (ALMEIDA *et al.*, 2008). A cafeína, um estimulante encontrado em plantas como o cafeeiro (*Coffea arabica*), o chá-daíndia (*Camellia sinensis*) e o cacaueteiro (*Theobroma cacao*), é um componente de bebidas muito consumidas. As altas concentrações de cafeína presentes nas plântulas de cafeeiro em desenvolvimento têm se mostrado altamente tóxicas e letais tanto para insetos quanto para fungos. Além disso, a cafeína liberada pelas plântulas aparentemente inibe a germinação de outras sementes ao redor delas, prevenindo o crescimento de competidores (Raven, 2014).

Os óleos essenciais produzidos pelas folhas de algumas plantas inibem a ação dos herbívoros; alguns protegem contra o ataque por fungos e bactérias, enquanto outros são conhecidos por serem alelopáticos (Raven, 2014). Além disso, estudos relacionados à ação alelopática são úteis na busca de novas moléculas com ação herbicida ou reguladora do crescimento, geralmente pertencentes a classes de metabólitos secundários, menos prejudiciais ao ambiente quando comparados aos herbicidas sintéticos (MAGIERO *et al.*, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. COLETA DO MATERIAL VEGETAL E PREPARO DOS EXTRATOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Química do Ifes - campus Itapina. Para o preparo dos extratos foram coletadas folhas de araçá-boi, cultivados no Ifes campus Itapina, localizado na cidade de Colatina, com coordenadas geográficas de 19° 32' 22" de latitude sul; 40° 37' 50" de longitude oeste e altitude de 71 metros. Para escolha das folhas não foram utilizadas nenhum critério, as folhas foram retiradas aleatoriamente, apenas retirando folhas inteira, sem sinal de ataque de pragas e/ou doenças. A idade das plantas são de aproximadamente 20 anos. As folhas foram expostas a secagem em estufa com ventilação e circulação de ar a 40 °C durante 48 horas (Figura 1). Após esse período de secagem, essas folhas foram pulverizadas em liquidificador industrial. Foi utilizado o pó das folhas para preparação dos extratos com os solventes água ou álcool 70%.



Figura 1. Estufa com ventilação e circulação de ar.

Fonte: autoral

Na preparação do extrato aquoso foi adicionado 0,5, 1,0 e 2 g do pó das folhas em 50 mL água destilada em um Becker de vidro. A mistura passou pelo processo de agitação por 1 hora, em agitador magnético. Após, foram filtrados com papel filtro e posteriormente adicionados às placas contendo as sementes.

Para o preparo do extrato por infusão as concentrações usadas foram as mesmas já descritas para o extrato aquoso, foi colocado a água em Becker de vidro para aquecer, também em agitador magnético, porém, sem agitação, até atingir 100 °C. O pó das folhas foi adicionado após a fervura da água e recoberto o Becker com vidro de relógio. Após atingir a temperatura ambiente, as amostras foram filtradas em papel de filtro.

O extrato hidroalcoólico foi preparado a partir da adição de álcool 70% ao pó da folha. Foi adicionado 200g de folha do araçá-boi para 600ml de álcool, em

proporção de 1:3 (amostra:álcool). Esse extrato ficou sob maceração a frio durante 72h. Após essa maceração o extrato foi filtrado em papel filtro e submetido a secagem em rotaevaporador para retirar todo o álcool e teve sua massa seca determinada.

3.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA

A avaliação da atividade alelopática dos extratos aquoso, por infusão e hidroalcolico de *E. stipitata* foi realizada com sementes de *Solanum lycopersicum* (tomate) e *Cucumis sativus* (pepino). Para cada tratamento foram feitas 3 repetições, com 25 sementes cada. Foram acondicionadas as sementes aleatoriamente em placas de Petri com fundo recoberto com papel filtro e embebidas em 3 mL de água destilada (CN) ou de extrato, com as concentrações 10; 20 e 40 mg/mL, para os extratos aquoso e por infusão, e com concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0 mg/mL para o extrato hidroalcolico (Figura 2).



Figura 2. Sementes embebidas nos extratos.

Fonte: autoral

A partir da instalação dos experimentos, a cada vinte e quatro horas, até a estabilização da germinação foi contabilizado o número de sementes germinadas, sendo consideradas germinadas aquelas sementes com cerca de 2 mm de protrusão da radícula.

O número final de plântulas emergidas, em cada repetição, a partir da média, foi transformado em percentagem e considerado o índice de germinação (IG).

A determinação do índice de velocidade de germinação (IGV) foi estipulada pela metodologia de Maguire (1962), levando em consideração a

coleta diária de dados que mostravam a contagem de sementes germinadas, ou seja, que apresentavam a protusão da radícula.

$$IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + GN/NN$$

Onde:

G1, G2 e GN: Número de plântulas germinadas na primeira, segunda até a última contagem.

N1, N2 e NN: Número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem.

O índice de alelopátia (IA) foi estimado conforme Balsalobre et al. (2006)

$$IA = \frac{(G \text{ testemunha} - G \text{ tratamento})}{G \text{ testemunha}} \times 100$$

G testemunha

onde G significa germinação.

3.3. QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS

Foram quantificados os compostos fenólicos totais, flavonoides totais e taninos totais. Para quantificação dos compostos secundários os extratos usados foram os mesmos preparados para avaliação alelopática.

A avaliação dos teores de compostos fenólicos totais foi realizada segundo Swain e Hills (1959), com adaptações. Foi adicionado 0,5 mL do extrato em tubo de ensaio com 8 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin Ciocalteu. A mistura, posteriormente, foi agitada em vórtex. Após 3 min. foi adicionado 1 mL de carbonato de sódio a 7,5% e agitada novamente em vórtex. Após repouso ao abrigo da luz por 1 h, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 750 nm. Utilizou-se como padrão o ácido gálico para construir uma curva de calibração. A partir da equação da reta obtida, realizou-se o cálculo do teor de compostos fenólicos totais, expresso em ug EAG/mg extrato (microgramas de equivalente de ácido gálico por miligrama de extrato).

O teor de flavonoides totais foi realizado com uma alíquota de 2 mL do extrato diluído em água destilada, em balão volumétrico, e adicionado, , 0,6 mL de ácido acético glacial, 10 mL de solução de piridina e água, e 2,5 mL de solução de cloreto de alumínio 7,5%, logo após foi completado o balão, até o volume de 25 mL, com água destilada. Essas amostras foram lidas, após 30

min, em espectrofotômetro a 420 nm. O resultado foi expresso em ug EQ/mg extrato (microgramas de equivalente de quercetina por miligrama de extrato) (PERDIGÃO, 2012).

Na quantificação dos taninos totais foi adicionado 1 mL do extrato ao tubo de ensaio e adicionado 1 mL do reagente Folin Denis. A mistura foi homogeneizada em vórtex e após 3 min foi adicionado 1 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%, e agitada novamente em vórtex. Os tubos preparados foram deixados em repouso por 1 h ao abrigo da luz e as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 750nm. Utilizou-se como padrão o ácido gálico para construir uma curva de calibração. A partir da equação da reta obtida, realizou-se o cálculo do teor de taninos totais expresso em ug EAG/mg extrato (microgramas de equivalente de ácido gálico por miligrama de extrato) (PANSERA, 2003).

3.4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a avaliação dos antioxidantes os extratos foram submetidos à determinação da capacidade de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), segundo o método descrito por Rufino *et al.* (2007). Foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 517 nm. O resultado foi calculado como a porcentagem de sequestro do radical DPPH, através da fórmula:

$$\% \text{ sequestro} = \frac{(\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra}) * 100}{\text{Absorbância do controle}}$$

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados foram submetidos à análise estatística através da análise de variância e havendo significância procedeu-se a comparação das médias pelo Teste de Skott-Knott, com nível de significância de 5% no software R *core team* (R, 2021).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número total de sementes germinadas mostrou diminuição nas concentrações de 20 mg/mL e 40 mg/mL nos tratamentos aquoso e infusão (Tabela 1).

Os maiores índice de germinação, nas sementes de tomate, foram observados no extrato aquoso e por infusão na concentração de 10 mg/mL, como também no tratamento hidroalcólico e CN Assim como o número de sementes germinadas, o índice de germinação foi menor nas concentrações de 20 mg/mL e 40 mg/mL nos tratamentos aquoso e infusão (Tabela 1). Portanto, nos tratamentos aquoso e por infusão, há uma diminuição significativa no número de sementes germinadas com o aumento da concentração do extrato, sendo as maiores concentrações as que afetaram significativamente a porcentagem de germinação.

O índice de velocidade de germinação mostrou-se superior no CN e seguido pelo extrato aquoso na concentração de 10 mg/mL e as demais concentrações.

Quando se compara os resultados do índice de germinação com os dados do índice de velocidade de germinação, ou seja, quanto tempo foi necessário para que as raízes conseguissem emergir, nota-se que, apesar de somente as duas maiores concentrações do extrato aquoso e por infusão terem apresentado declínio no índice de germinação, o índice de velocidade de germinação foi reduzido significativamente em todos os tratamentos (Tabela 1).

Para o índice de alelopátia os maiores valores foram observados na concentração de 40 mg/mL, nos extratos aquoso e por infusão.

Nas concentrações de 20 e 10 mg/mL houve menor atividade alelopática com extrato aquoso, e para o extrato hidroalcólico, nas concentrações de 1,0 e 2,0 mg/mL respectivamente. O hidroalcólico apresenta comportamento diferente dos demais, quanto maior a concentração, melhor o índice de germinação e menor o índice de alelopátia (Tabela 1). Índices de Alelopátia superiores a 50% são considerados como tendo significativo efeito alelopático (Balsalobre et. al., 2006). Os extratos da folha do araçá-boi influenciaram minimamente a germinação das sementes de tomate, mostrando-se como extratos com baixa atividade alelopática.

O índice de alelopatia para os extratos aquoso e por infusão se manteve abaixo dos 50%, porém, suficiente para, nas maiores concentrações aplicadas (20 e 40 mg/mL), afetar a germinação (número de sementes germinadas), indicando que os metabólitos presentes nas folhas de araquá-boi podem afetar a capacidade de protusão da radícula em concentrações elevadas.

Os dados da Tabela 1 indicam que existe uma tendência à inibição da germinação proporcional à concentração utilizada, ou seja, quanto maior a concentração dos extratos maior será a inibição da germinação da planta-teste, contudo não apresentaram atividade alelopática, uma vez que nenhuma das concentrações alcançou 50% de inibição da atividade alelopática.

Os resultados encontrados no presente trabalho vão de encontro aos apresentados por Huller & Schock (2011), nos quais os autores concluem que a espécie *E. uniflora* não apresentou efeitos significativos na germinação e desenvolvimento em plântulas de alface.

Tabela 1. Germinação e índice de alelopatia das sementes de tomate submetidas ao tratamento com extrato aquoso, infusão e hidroalcóolico.

Extrato <i>E. stipitata</i>	Concentração do extrato	Nº total de sementes	Nº de sementes germinadas	Índice de germinação (%)	Índice de velocidade de germinação	Índice de alelopatia (%)
CN	-	25	19a	76a	19,47a	-
Aquoso	10 mg/mL	25	20a	80a	15,58b	-7,02
	20 mg/mL	25	15b	60b	10,11c	19,30
	40 mg/mL	25	13b	52b	8,28c	28,07
Infusão	10 mg/mL	25	19a	76a	11,23c	1,69
	20 mg/mL	25	15b	60b	8,66c	18,64
	40 mg/mL	25	15b	60b	7,75c	23,73
Hidroalcóolico	0,5 mg/mL	25	17a	68a	9,03c	12,07
	1,0 mg/mL	25	19a	76a	11,82c	-1,72
	2,0 mg/mL	25	20a	80a	10,63c	-5,17

CV%	-	-	14,85%	14,85%	15.18%	-
-----	---	---	--------	--------	--------	---

**Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5% $p < 0,05$.

No ensaio com as sementes de pepino não houve diferença estatística significativa entre o CN e os tratamentos para nenhum dos parâmetros avaliados (Tabela 2).

O índice de germinação nas concentrações de 40 mg/mL, para o extrato aquoso, 10 mg/mL, por infusão, e em todas as concentrações para o extrato hidroalcolico, tiveram resultados de 96%. Para as demais concentrações o valor foi de 100%. Do mesmo modo, para o índice de alelopatia, apenas as concentrações de 40 mg/mL, para o extrato aquoso, e 10 mg/mL, por infusão, e o extrato hidroalcolico apresentaram o mesmo índice (Tabela 2). O extrato de folhas de arará-boinão apresentou potencial alelopático na germinação das sementes de pepino.

Entre os extratos avaliados, não houve efeito inibitório na germinação das sementes de pepino. As porcentagens de alelopatia ficaram abaixo de 2%, valor insuficiente para causar alterações consideráveis no índice de germinação e na velocidade de emissão radicular das sementes tratadas.

Tabela 2. Germinação e índice de alelopatia das sementes de pepino submetidas ao tratamento com extrato aquoso, infusão e hidroalcolico.

Extrato	Concentração do extrato	Nº total de sementes	Nº de sementes germinadas	Índice germinação (%)	Índice de velocidade de germinação (%)	Índice de alelopatia (%)
CN	-	25	25a	100a	20,33a	-
Aquoso	10 mg/mL	25	25a	100a	20,67a	0,00
	20 mg/mL	25	25a	100a	19,67a	0,00
	40 mg/mL	25	24a	96a	19,89a	1,33
	10 mg/mL	25	24a	96a	19,89a	1,33
Infusão	20 mg/mL	25	25a	100a	20,67a	0,00
	40 mg/mL	25	25a	100a	20,50a	0,00

	0,5 mg/mL	25	24a	96a	20,39a	1,33
Hidroalcoólico	1,0 mg/mL	25	24a	96a	20,39a	1,33
	2,0 mg/mL	25	24a	96a	19,89a	1,33
CV%	-	-	14,85%	14,85%	15,18%	-

**Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5% $p < 0,05$.

Na avaliação dos teores de compostos secundários foi observada grande variação entre os diferentes tipos de extratos, o extrato hidroalcoólico apresentou os maiores valores para todas as variáveis médias, enquanto o extrato por infusão e aquoso não apresentaram diferença significativa entre si, exceto para o teor de fenólicos totais em que o segundo apresentou média inferior (Tabela 3). Isso se deve pela afinidade destas substâncias por solventes polares, melhorando assim sua extração, pois a maioria dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob forma de ésteres ou de heterosídeos; sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares (Monteiro, 2005).

Tabela 3. Teor de compostos secundários dos extratos aquoso, infusão e hidroalcoólico de *E. stipitata*.

Extrato	Teor de Flavonoides		
	Teor de Fenólicos totais (μg EAG/mg extrato)	Teor de Fenólicos totais (μg EQ/mg extrato)	Teor de taninos totais (μg EAG/mg extrato)
Aquoso	61,65c	15,91b	224,36b
Infusão	107,58b	20,98b	291,95b
Hidroalcoólico	1029,05a	294,63a	3518,14a
CV%	1,91%	9,48%	17,56%

**Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5% $p < 0,05$.

O efeito alelopático de metabólitos secundários sobre as plantas é uma consequência de vários efeitos a nível celular e molecular, que podem alterar processos como germinação de sementes, a atividade fotossintética e, ainda, interferir nos mecanismos hormonais de indução de crescimento das plantas

(MIGNONI, 2015). É comprovado, através de estudos, que há interferência dos compostos secundários sobre a germinação de sementes.

Muitos destes compostos são potencialmente aleloquímicos. Eles variam na planta em concentração, localização e composição, podendo ser excretados para o meio no solo ou no ar de forma ativa ou simplesmente lixiviados. O tempo de residência, a persistência e a transformação podem aumentar, diminuir ou fazer cessar o seu efeito alelopático, pela ação de microrganismos no solo (FERREIRA, 2000).

Na avaliação da atividade antioxidante foi observada grande variação. O extrato hidroalcoólico apresentou 93,3% de atividade antioxidante, índice que apesar de diferente estatisticamente se aproxima ao apresentado pelo ácido gálico (substância padrão). A atividade antioxidante dos demais extratos não difere entre si, . Nota-se então que, no extrato hidroalcoólico, há um expressiva taxa de sequestro do radical DPPH, o que indica que este extrato possui a capacidade de neutralizar radicais livres, podendo ser utilizado como fonte de antioxidantes naturais em substituição aos antioxidantes sintéticos na indústria alimentícia, farmacêutica, de cosméticos, dentre outras.

Tabela 4. Atividade antioxidante (DPPH) dos extratos aquoso, infusão e hidroalcoólico de folhas de *E. stipitata*.

Extrato <i>E. stipitata</i>	Atividade antioxidante (%)
Aquoso	21,18c
Infusão	19,21c
Hidroalcoólico	93,34b
Ác. Gálico (Padrão)	95,99a

**Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5% $p < 0,05$.

5. CONCLUSÃO

Verificou-se que não há efeito alopático, para a biologia, presente nos extratos aquoso, por infusão e hidroalcólico da folha do araçá-boi. Portanto, no ponto de vista agronomico, há sim uma tendêndia de inibição na germinação das sementes. Sobre as sementes de tomate, constatou-se baixa atividade alelopática com pouca interferência na germinação de sementes, enquanto que, sobre as sementes do pepino não houve nenhuma atividade prejudicial a germinação.

Para os compostos secundários, o extrato hidroalcólico apresentou as maiores concentrações. O extrato aquoso foi o que teve menor concentração de taninos, fenólicos e flavonoides.

Na atividade antioxidante o extrato hidroalcólico mostrou maior capacidade de sequestrar radicais livres.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akula, R. e Ravishankar, GA (2011) Influência de Sinais de Estresse Abiótico em Metabólitos Secundários em Plantas. *Plant Signaling & Behavior*, 6, 1720-1731.

ALMEIDA, G.D. *et al.* Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín**, v. 61, n. 1, p. 4237-4247, 2008.

BALSALOBRE, L. C. *et al.* Ação alelopática do arilo das sementes de *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Dryand. In: **19^a RAIB**, v.68, suplemento 2, 2006. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/biologico/v68_supl_raib/283.PDF>. Acesso em: 01 dez. 2006.

FERREIRA, A. G., AQUILA, M. E. A. R. *Bras.Fisiol.Veg.* 12. 2000. p175-204.

FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J.P.; HERNÁNDEZ, M.S.; CARRILLO, M.; BARRERA, J. Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). In: YAHIA, E. M. (Org.). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**. England: Woodhead Publishing, 2011. p. 98-117.

Furlan, A.L., Bianucci, E., e Castro, S. "Signaling role of ROS in modulando a tolerância ao estresse hídrico", em *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1: Physiology and Biochemistry*, LS Tran, Ed., Springer, Cham, Suíça, 2016

GORLA, C.M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.2, p.260-265, 1997.

HUANG, W.Y.; CAI, Y.Z.; ZHANG, Y. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. **Nutrition and cancer**, v. 62, n. 1, p. 1–20, 2009.

Hüller, A.; Schock, A. A. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.5, n.1, p. 25 a 37, 2011.

MAGIERO, E.C.; ASSMANN, J.M.; MARCHESE, J.A.; CAPELIN, D.; PALADINI M.V.; TREZZI, M.M. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 317-324, 2009.

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

MOLASSIOTIS, A., JOB, D., ZIOGAS, V., E TANOU, G. "Citrus plantas: um sistema modelo para desvendar os segredos de NO e ROS-inspirado priming contra salinidade e seca," *Frontiers in Plant Science* , vol. 7, pág. 553, 2016

MCVAUGH, R. Tropical American Myrtaceae. **Fieldiana Botany**, v. 29, n. 3, p. 145-228,1956.

MEDEIROS, J.R.; MEDEIROS, N.; MEDEIROS, H.; DAVIN, L.B.; LEWIS, N.G. Composition of the bioactive oils from the leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh ssp. sororia from the Azores. **Journal of Essential Oil Research**, v. 15, p. 293-295, 2003.

MIGNONI, Daiane Salete Broch. **Potencial fitotóxico de sementes de Sesbania virgata (Cav.) Pers. sobre a germinação de sementes e o crescimento inicial de Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit.** 2015. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica.

MONTEIRO J. M., ALBUQUERQUE, U. P., ARAÚJO, E. L., AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem química à ecologia. *Quím. Nova*, 2005;28(5): 892-896.

MORAIS, S.M. *et al.* Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1, p. 315–320, 2009.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 411–424, 2004.

NERI-NUMA, I.A.; CARVALHO-SILVA, L.B.; MORALES, J.P.; MALTA, L.G.L.; MURAMOTO, M.T.; FERREIRA, J.E.M.; CARVALHO, J.E.; RUIZ, A.L.T.G.;

MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.M.; PASTORE, G.M. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* McVaugh-Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 70-76, 2013.

NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A.; Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo. v.26, n.3, p.331-334, 2003.

OLIVEIRA, A.C. *et al.* Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

OLIVEIRA JR, Rubem Silvério de; CONSTATIN, Jamil; INOUE, Miriam Hiroko. *Biologia e Manejo das Plantas Daninhas*. Curitiba-PR, Omnipax, 2011.

PANSERA, M.R.; SANTOS, A.C.A.; PAESE, K.; WASUM, R.; ROSSATO, M.; ROTA, L.D.; PAULETTI, G.F.; SERAFINI, L.A. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.13, n.1, p 17-22, 2003.

PERDIGÃO, T.L., 2012. **Avaliação morfofisiológica, fitoquímica e mutagênica de *Passiflora edulis* Sims f. flavicarpa Deg exposta a diferentes concentrações de alumínio**. 1-82.

Pinedo, P.M.; Ramirez, N.; Blasco, M.L. 1981. Notas preliminares sobre cl araza (*Eugenia stipitata*), frutal nativo de la Amazonia Peruana. Pub. Misc. 229, **Instituto Nacional de Investigación Agraria**, Lima, Peru. 58p.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. *Biologia Vegetal*. (8ª Ed). Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 2014.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>, 2021.

RUFINO, M.S.M. *et al.* Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical**. Comunicado técnico, 2007a.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa, MG, 135p. 2000.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.19, p. 63-68, 1959.

TAIZ, LINCON; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TIVERON, A. P. Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos Piracicaba: Universidade de São Paulo, 13 out. 2010.

VALKO, M., *et al.* Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, p. 1-40, 2006.

VIRGOLIN, L.B.; SEIXAS, F.R.F.; JANZANTTI, N.S. Composition, content of bioactive compounds, and antioxidant activity of fruit pulps from the Brazilian Amazon biome. **Pesq. agropec. bras.**, v. 52, n.10, p. 933-941, 2017.

ZANUTTO, F. V. *et al.* Screening Non-colored Phenolics in Red Wines using Liquid Chromatography/Ultraviolet and Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Libraries. **Process Biochemistry**, v. 12, n. 2, p. 679–693, 2014.

SHAH, Z. H., REHMAN, H. M., AKHTAR, T., *et al.*, "Redox e regulação da homeostase iônica contra o estresse oxidativo, salinidade e seca no trigo (uma abordagem de biologia de sistemas)", *Frontiers in Genetics*, vol. 8, pág. 141, 2017.