



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

TESE

**VARIABILIDADE GENÉTICA, MORFOLÓGICA E FITOQUÍMICA DE
GENÓTIPOS DE *OPUNTIA* E *NOPALEA***

FRANCISCO ABEL LEMOS ALVES

2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**VARIABILIDADE GENÉTICA, MORFOLÓGICA E FITOQUÍMICA DE
GENÓTIPOS DE *OPUNTIA* E *NOPALEA***

Francisco Abel Lemos Alves

Sob a Orientação da Professora
Rislane de Lucena Alcântara Bruno

e Co-orientação do Professor
Albericio Pereira de Andrade

Tese submetida como requisito
para obtenção do grau de **Doutor
em Agronomia**, no Programa de
Pós-Graduação em Agronomia.

Areia, PB
Dezembro de 2015

A474v Alves, Francisco Abel Lemos.
Variabilidade genética, morfológica e fitoquímica de
genótipos de *Opuntia e Nopalea* / Francisco Abel Lemos
Alves.- Areia-PB, 2015.
200f. : il.
Orientadora: Riselane de Lucena Alcântara Bruno
Coorientador: Albericio Pereira de Andrade
Tese (Doutorado) - UFPB/CCA
1. Agronomia. 2. Análise de alimento. 3. Análise
multivariada. 4. Anticâncer. 5. Metabólitos secundários.

UFPB/BC

CDU: 631(043)

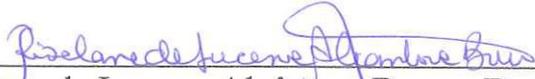
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

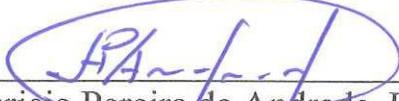
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

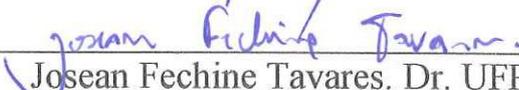
TÍTULO: VARIABILIDADE GENÉTICA, MORFOLÓGICA E
FITOQUÍMICA DE GENÓTIPOS DE *OPUNTIA* E *NOPALEA*

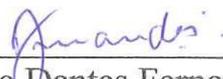
AUTOR: FRANCISCO ABEL LEMOS ALVES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR em
AGRONOMIA (Agricultura Tropical) pela comissão Examinadora:


Riselane de Lucena Alcântara Bruno. Dr. UFPB
(Orientador)


Albericio Pereira de Andrade. Dr. UFPB


Josean Fechine Tavares. Dr. UFPB


Pedro Dantas Fernandes. Dr. UEPB

da realização: 22 de dezembro de 2015.

Presidente da Comissão Examinadora
Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno
Orientador

“E, tudo o que fizerem, façam de todo o coração, como para o Senhor, e não para os homens...”
(Colossenses 3:23)

“Ele fortalece o cansado e dá grande vigor ao que está sem forças. Até os jovens se cansam e ficam exaustos, e os moços tropeçam e caem; mas aqueles que esperam no Senhor renovam as suas forças. Voam alto como águias; correm e não ficam exaustos, andam e não se cansam”.
(Isaiás 40:29-31)

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho em primeiro lugar a **Deus**, sem sua permissão não seria possível realizar este sonho.

A meu pai, **Antônio Alberto Alves**, e a minha mãe, **Regina Maria Vieira Lemos**, que acreditaram que se pode sim, dar um futuro melhor aos filhos através da educação.

À minha esposa, **Alana Maria Ribeiro Silva**, pelo apoio, companheirismo e aconselhamentos em todos os momentos, dando força nas horas de incertezas e medos. Que desde a época de colégio, sempre acreditou nos meus objetivos.

À minha filha, **Ana Isabel Ribeiro Lemos**, que me deu força e coragem para não desistir, e pelos muitos sorrisos e alegrias proporcionados a mim nos momentos mais tensos desse período de minha vida. Minha filha você é uma luz em minha vida.

Aos meus irmãos, **Antônio Alberto Alves Júnior**, **Antonia Beatriz de Souza Alves** e **Ednete Ferreira**, que esse exemplo de superação e fé em Deus seja multiplicado e repassado para as futuras gerações.

AGRADECIMENTO

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada. Me deu capacidade intelectual, força, coragem, entusiasmo e alegrias nessa missão.

À Universidade Federal da Paraíba e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia pelo acolhimento.

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Agronomia.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco, minha casa, que me liberou para a realização desse sonho.

Ao Governo do Estado de Pernambuco pelo incentivo a profissionalização de seus funcionários.

Ao prof. Dr. Alberício Pereira de Andrade e a Prof^a. Dr^a. Riselane de Lucena Alcântara Bruno, pela orientação concedida nesse trabalho, pelas ideias, conselhos, e principalmente por contribuir na minha formação acadêmica, profissional e pessoal.

À prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF-UFPB), pela orientação e disponibilidade de seu laboratório para a realização dos trabalhos na determinação do perfil fitoquímico das amostras. Aos doutorandos, Severino Gonçalves de Brito Filho e Otemberg Souza Chaves, e aos laboratoristas Raimundo Nonato da Silva Filho, Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa e Dr. Alessandro Fernandes Marinho pela ajuda na parte de laboratório.

À prof^a. Dr^a. Maria Goretti de Vasconcelos Silva, do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará, pela orientação e disponibilidade de seu laboratório para a realização dos trabalhos de quantificação dos flavonoides. A graduanda, Maria Isabel Barros Fernandes pela ajuda na parte de laboratório.

À prof^a. Dr^a. Iêda Maria Garcia dos Santos, do Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM-UFPB), pela orientação e disponibilidade de seu laboratório para a realização dos trabalhos de quantificação dos compostos fenólicos. As doutorandas Isabelle Brito e Maristela Alves Alcântara e a graduanda Laís Chantelle de Lima pela ajuda na parte de laboratório.

Ao Dr. Everaldo Paulo de Medeiros, da Embrapa, pela amizade, conselhos na melhoria desse trabalho e na contribuição na minha formação acadêmica e profissional.

Aos profs. Dr. Pedro Dantas Fernandes da Universidade Estadual da Paraíba, e Dr. Josean Fachine Tavares da Universidade Federal da Paraíba pela amizade, conselhos na melhoria desse trabalho e na contribuição na minha formação acadêmica e profissional.

Aos meus amigos, Dr. Joaquim Albenisio Gomes da Silveira e Dr. Sérgio Luiz Ferreira da Silva, que acreditaram no meu potencial, e que ajudaram em minha formação acadêmica e profissional.

Aos meus amigos de trabalho, Dr. Djalma Cordeiro dos Santos, Dr^a. Maria da Conceição Silva, Dr. Júlio César Vieira de Oliveira, Dr. Antônio Santana dos Santos Filho, da Estação Experimental do IPA em Arcoverde-PE, que me apoiaram e me deram força para trilha por esse caminho da pesquisa científica. Em especial à Dr^a. Vanda Lúcia Arcanjo Pereira, pois o seu apoio e dedicação foram fundamentais para a realização desse sonho.

Ao colega Dr. José de Paula Oliveira, do Laboratório de Análise de Água, Planta e Ração do IPA, por ceder seu laboratório para as análises nutricionais. Às colegas Marilene Pimentel Ferreira e Sandra Mendes Batista pela ajuda prestada na parte de laboratório.

Ao meu amigo de curso Dr. Alex da Silva Barbosa (UFPB), que trilhou esse caminho comigo, dando-me conselhos, força, quando tudo para nós era novidade.

Aos meus colegas de curso Ykesaky Terson, Ernane Nogueira Nunes, Carlos Antônio Belarmino Alves, pela força, incentivo nas horas difíceis do curso e pelos momentos de descontração nesse período.

A todos os professores, funcionários e colegas do programa de Pós-graduação em Agronomia, pela união e ajuda prestada uns aos outros nessa nossa caminhada acadêmica junto ao desenvolvimento do nosso semiárido.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
LISTA DE TABELAS	3
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS	9
CAPÍTULO I – Contextualização	10
1.1 Introdução Geral	11
1.2 Referencial Teórico	14
1.2.1 A palma forrageira	14
1.2.1.1 Adaptação ecológica e químicas as regiões áridas e semiáridas	14
1.2.1.2 Importância para o semiárido brasileiro	16
1.2.1.3 Origem, classificação taxonômica e distribuição geográfica da palma forrageira	20
1.2.1.4 Descrição da planta	23
1.2.1.5 Composição química e nutricional dos cladódios	24
1.2.1.5.1 Composição dos metabólitos secundários (compostos bioativos) dos cladódios	25
1.2.1.5.2 Acúmulo de metabólitos secundários nos cladódios e adaptação das plantas ao estresse oxidativo	28
1.2.1.6 Estresse oxidativo, antioxidantes e doenças em animais e humanos	29
1.2.1.7 Utilização de cladódios de palma na nutrição e prevenção de doenças	30
1.3 Referências Bibliográficas	32
CAPÍTULO II - Estudo da variabilidade genética, correlação e importância de características fenotípicas em palma forrageira (<i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>)	46
Resumo	47
Abstract	48
2.1 Introdução	49
2.2 Material e Métodos	50
2.2.1 Local do experimento	50
2.2.2 Material vegetal e condução do experimento	50
2.2.3 Determinação de características morfológicas e produção	51
2.2.4 Determinação de características comportamentais	51
2.2.5 Análise estatística	52
2.3 Resultados e Discussão	52
2.4 Conclusões	68
2.5 Referências	68
CAPÍTULO III - Estudo da variabilidade genética, correlação e importância de características químicas e nutricionais em palma forrageira (<i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>)	72
Resumo	73
Abstract	74
3.1 Introdução	75
3.2 Material e Métodos	76
3.2.1 Local do experimento	76

3.2.2	Material vegetal e condução do experimento	76
3.2.3	Determinação de características químicas e nutricionais	77
3.2.4	Análise estatística	77
3.3	Resultados e Discussão	78
3.4	Conclusões	93
3.5	Referências	93
 CAPÍTULO IV - Variabilidade química e nutricional de cladódios de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>		99
	Resumo	100
	Abstract	101
4.1	Introdução	102
4.2	Material e Métodos	103
4.2.1	Local do experimento	103
4.2.2	Material vegetal e condução do experimento	103
4.2.3	Determinação de características químicas e nutricionais	104
4.2.4	Análise estatística	104
4.3	Resultados e Discussão	105
4.4	Conclusões	119
4.5	Referências	119
 CAPÍTULO V - Variabilidade sazonal dos compostos fenólicos e atividade antioxidante em cladódios de palma dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>		124
	Resumo	125
	Abstract	126
5.1	Introdução	127
5.2	Material e Métodos	127
5.2.1	Material vegetal	127
5.2.2	Extração etanólica	128
5.2.3	Prospecção química	128
5.2.4	Determinação do conteúdo de fenólicos totais	129
5.2.5	Determinação do conteúdo de flavonoides totais	129
5.2.6	Determinação do conteúdo de antocianinas totais	129
5.2.7	Determinação da atividade antioxidante total	130
5.2.8	Análise estatística	130
5.3	Resultados e Discussão	131
5.3.1	Prospecção química	131
5.3.2	Determinação do teor de fenólicos e flavonoides totais	132
5.3.3	Determinação do teor de antocianinas totais	135
5.3.4	Determinação da atividade antioxidante total	136
5.4	Conclusões	139
5.5	Referências	139
 CAPÍTULO VI - Diversidade genética e perfil químico sazonal através de RMN de ¹H e atividade citotóxica nos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>		145
	Resumo	146
	Abstract	147
6.1	Introdução	148
6.2	Material e Métodos	149
6.2.1	Material vegetal	149

6.2.2 Extração etanólica	149
6.2.3 Prospecção química	150
6.2.4 Espectros de RMN de ^1H	150
6.2.5 Determinação da atividade citotóxica	150
6.2.6 Análise estatística	151
6.3 Resultados e Discussão	152
6.3.1 Prospecção química	152
6.3.2 Espectros de RMN de ^1H	153
6.3.3 Diversidade genética através do espectro de RMN de ^1H	166
6.3.4 Determinação da atividade citotóxica	170
6.4 Conclusões	174
6.5 Referências	174
7 Considerações Finais	181
ANEXOS	184

VARIABILIDADE GENÉTICA, MORFOLÓGICA E FITOQUÍMICA DE GENÓTIPOS DE *OPUNTIA* E *NOPALEA*

RESUMO GERAL

A palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* são espécies de plantas muito cultivadas na região semiárida do Brasil, notadamente para a produção de forragem para os animais na época seca. Os cladódios da planta têm sido considerados por muito tempo uma importante fonte de nutrientes para a alimentação humana e animal, além de possuir propriedades benéficas para a saúde. Por causa da grande diversidade genética desses gêneros, com cerca de 300 espécies, existe a necessidade de se caracterizar as variedades cultivadas no Brasil a fim de se obter informações nutricionais e propriedades bioativas. Objetivou-se com este estudo caracterizar a variabilidade genética e temporal do perfil químico e nutricional dos cladódios de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida do Brasil; avaliar o potencial antioxidante e citotóxico de extratos etanólico bruto de cladódios dessas variedades, contra células de câncer humano; além de caracterizar a diversidade genética através de características fenotípicas, químicas e nutricionais, e determinar a correlação e importância dessas características na variabilidade entre os genótipos, utilizando técnicas de análise multivariada. As pesquisas foram realizadas com sete variedades de palma (IPA-100003, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200008, IPA-200149 e IPA-200016) em duas estações do ano, seca e chuvosa. As plantas foram cultivadas em condições de sequeiro na estação experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), situado em Arcoverde-PE. As plantas foram analisadas através de 19 características morfológicas e 20 atributos químicos e nutricionais. Os resultados do estudo do perfil químico e nutricional dos cladódios de variedades de palma forrageira confirmam o valor nutritivo dos mesmos tanto na nutrição animal quanto na nutrição humana. Os componentes químicos e nutricionais da palma têm uma ampla variação, tanto em sua composição quanto no seu conteúdo, e variam entre as espécies botânicas estudadas, dentro da mesma espécie, entre cladódios dentro do genótipo, e época do ano de coleta do material. Os estudos confirmaram que os metabólitos secundários (compostos bioativos) presentes na palma forrageira têm ação antioxidante e citotóxica contra células de câncer humana estudadas (HCT-116-cólon retal, SF-295-glioblastoma e OVCAR-8-ovário). Essas substâncias são da classe dos compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) e/ou esteróis identificados nos cladódios. Do mesmo modo que a composição química, a atividade antioxidante e citotóxica do extrato etanólico bruto dos cladódios, varia entre as espécies botânicas estudadas, dentro da mesma espécie, épocas do ano e tipos de células cancerígenas. Os resultados do estudo da diversidade genética utilizando características fenotípicas, químicas e nutricionais indicaram que o teor de água, massa fresca, conteúdo de flavonoides e potássio dos cladódios foram as características que mais contribuíram para a variabilidade genética entre os genótipos. Essas características estão significativamente correlacionadas com massa seca, largura, comprimento, área, extrato não nitrogenado e compostos fenólicos dos cladódios. Essa pesquisa também agrupou as variedades de acordo com suas similaridades, em dois a cinco grupos distintos, facilitando a escolha de cruzamentos entre genótipos viáveis, visando ganhos genéticos entre as características de interesse.

Palavras-chave: análise de alimento, análise multivariada, anticâncer, metabólitos secundários

VARIABILITY GENETIC, MORPHOLOGICAL AND PHYTOCHEMICAL OF GENOTYPES *OPUNTIA* AND *NOPALEA*

GENERAL ABSTRACT

The cactus pear of the *Opuntia* and *Nopalea* genres are species of plants very cultivated in the semiarid region of Brazil, mainly for forage production for animals in the dry season. The cladodes of the plant has been considered per long time an important source of nutrients for human and animal alimentation, besides have beneficial properties for health. Because of great genetic diversity of these genres, with about 300 species, there is a need to characterize the varieties grown in Brazil in order to get nutritional information and bioactive properties. The objective of this study was to characterize the genetic and temporal variability of chemical and nutritional profile of cladodes of varieties of cactus pear of the genres *Opuntia* and *Nopalea* cultivated in semiarid region of Brazil; evaluate the potential antioxidant and cytotoxic of ethanol crude extracts of cladodes of these varieties, against human cancer cells; besides, characterize the genetic diversity through characteristics phenotypic, chemical and nutritional, and determine the correlation and importance of these characteristics in the variability between genotypes, using multivariate techniques. The researches were conducted with seven cactus pear varieties (IPA-100003, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200008, IPA-200149 and IPA-200016) in two seasons, dry and rainy. The plants were cultivated under rainfed conditions in the experimental station of Instituto Agronomico de Pernambuco (IPA), located in Arcoverde-PE. Plants were analyzed by 19 morphologic characteristics and 20 chemical and nutritional attributes. The results of the study of the chemical and nutritional profile of the cladodes of cactus pear varieties confirm the nutritive value so much in animal nutrition how much in human nutrition. The components chemical and nutritional of the cactus pear have a wide variation so much in its composition how much in its content, and vary between plant species studied, within the same species, among cladodes within the genotype and season collect material. The studies confirmed that the secondary metabolites (bioactive compounds) present in the cactus pear have antioxidant and cytotoxic activity against cells of human cancer studied (HCT-116-colon rectal, SF-295-glioblastoma and OVCAR-8-ovarian carcinoma). These substances are of the class of phenolic compounds (phenolic acids and flavonoids) and/or sterols identified in the cladodes. Just as in the chemical composition, antioxidant and cytotoxic activity of the extract ethanol crude of cladodes varies between plant species studied, within the same species, seasons of the year and types of cancer cells. The results of the study of genetic diversity using phenotypic, chemical and nutritional characteristics indicated that the water content, fresh weight, flavonoid content and potassium of the cladodes were the characteristics that most contributed to the genetic variability between genotypes. These characteristics are significantly correlated to dry weight, width, length, area, nitrogen free extract and phenolic compounds of cladodes. This research also grouped the varieties according to their similarities, in two to five groups different, facilitating the choice of viable crosses between genotypes, aiming genetic gains between the characteristics of interest.

Key words: anticancer, food analysis, multivariate analysis, secondary metabolites

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II	
Tabela 2.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil	51
Tabela 2.2. Análise de variância e estimativas do coeficiente de variação ambiental (C _{Ve}), da razão entre os coeficientes de variação genético (C _{Vg}) e ambiental (C _{Ve}), da herdabilidade no sentido amplo (h ²) das características morfológicas e comportamentais de sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	53
Tabela 2.3. Média das características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	56
Tabela 2.4. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características morfológicas e comportamentais, a distância generalizada de Mahalanobis e o método de otimização de Tocher	56
Tabela 2.5. Estimativa dos autovalores associados aos componentes principais e importância relativa (autovetores) referente a 19 características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	62
Tabela 2.6. Estimativa dos autovalores associados a variáveis canônicas e importância relativa (autovetores) referente a 19 características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	63
Tabela 2.7. Contribuição relativa de 19 características morfológicas e comportamentais para a diversidade genética das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, por meio da metodologia de Singh (1981)	64
Tabela 2.8. Correlações entre as características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	67
CAPÍTULO III	
Tabela 3.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil	77
Tabela 3.2. Análise de variância e estimativas do coeficiente de variação ambiental (C _{Ve}), da razão entre os coeficientes de variação genético (C _{Vg}) e ambiental (C _{Ve}), da herdabilidade no sentido amplo (h ²) das características químicas e nutricionais de sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	79
Tabela 3.3. Média das características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	81

Tabela 3.4. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características químicas e nutricionais, a distância generalizada de Mahalanobis e o método de otimização de Tocher	83
Tabela 3.5. Estimativa dos autovalores associados aos componentes principais e importância relativa (autovetores) referente a 20 características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	84
Tabela 3.6. Contribuição relativa de 20 características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, por meio da metodologia de Singh (1981)	87
Tabela 3.7. Correlações entre as características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco	92
CAPÍTULO IV	
Tabela 4.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil	104
Tabela 4.2. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira e quarta ordem da variedade de palma forrageira IPA-100003	110
Tabela 4.3. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda e terceira ordem da variedade de palma forrageira IPA-200016	111
Tabela 4.4. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira, quarta, quinta e sexta ordem da variedade de palma forrageira IPA-200008	112
Tabela 4.5. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira, quarta e quinta ordem da variedade de palma forrageira IPA-100004	113
Tabela 4.6. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira, quarta, quinta, sexta e sétima ordem da variedade de palma forrageira IPA-200021	114
Tabela 4.7. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda e terceira ordem da variedade de palma forrageira IPA-200205	115
Tabela 4.8. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira e quarta ordem da variedade de palma forrageira IPA-200149	116
Tabela 4.9. Composição química e bromatológica dos cladódios secundários de variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>	117
Tabela 4.10. Composição química e bromatológica dos cladódios terciários de variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i>	118
CAPÍTULO V	
Tabela 5.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil	128
Tabela 5.2. Perfil fitoquímico de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira, dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , nos períodos seco e chuvoso	131
CAPÍTULO VI	
Tabela 6.2. Perfil fitoquímico de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira, dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , nos períodos seco e chuvoso	152

Tabela 6.3. Deslocamento químico observado no espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> no período seco e chuvoso	158
Tabela 6.4. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação seca, a medida de similaridade expressa pelo índice de Jaccard e o método de otimização de Tocher	168
Tabela 6.5. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação chuvosa, a medida de similaridade expressa pelo índice de Jaccard e o método de otimização de Tocher	168

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO I	
Figura 1.1. Distribuição de <i>Opuntia</i> spp. no mundo. (Sáenz <i>et al.</i> , 2006a)	21
Figura 1.2. Disseminação de <i>Opuntia</i> spp. no mundo. (Griffith, 2004)	22
Figura 1.3. Distribuição de <i>Opuntia</i> spp. pelo nordeste do Brasil	23
CAPÍTULO II	
Figura 2.1. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características morfológicas e comportamentais	57
Figura 2.2. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base seis características morfológicas e comportamentais	58
Figura 2.3. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , em relação a primeira, segunda e terceira variável canônica (VC1, VC2 e VC3) tendo como base seis características morfológicas e comportamentais	59
CAPÍTULO III	
Figura 3.1. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características químicas e nutricionais	83
Figura 3.2. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> , em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base vinte características químicas e nutricionais	85
CAPÍTULO V	
Figura 5.1. Teor de compostos fenólicos e flavonoides totais das variedades de palma. (a) período seco; (b) período chuvoso. (V1) IPA-100003 (<i>O. ficus indica</i>), (V2) IPA-200016 (<i>O. stricta</i>), (V3) IPA-200008 (<i>O. atropes</i>), (V4) IPA-100004 (<i>N. cochenillifera</i>), (V5) IPA-200021 (<i>N. cochenillifera</i>), (V6) IPA-200205 (<i>N. cochenillifera</i>) e (V7) IPA-200149 (<i>O. larreri</i>). *As médias seguidas pela mesma letra nas colunas pretas ou cinzas não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam a média (n=3) ±desvio padrão	133
Figura 5.2. Determinação de antocianinas no período seco e chuvoso de variedades de palma. (V1) IPA-100003 (<i>O. ficus indica</i>), (V2) IPA-200016 (<i>O. stricta</i>), (V3) IPA-200008 (<i>O. atropes</i>), (V4) IPA-100004 (<i>N. cochenillifera</i>), (V5) IPA-200021 (<i>N. cochenillifera</i>), (V6) IPA-200205 (<i>N. cochenillifera</i>) e (V7) IPA-200149 (<i>O. larreri</i>). *As médias seguidas pela mesma letra nas colunas pretas ou brancas não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott	136

ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam a média (n=3) \pm desvio padrão

- Figura 5.3. Determinação da atividade antioxidante total no período seco e chuvoso de variedades de palma. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). *As médias seguidas pela mesma letra nas colunas pretas ou brancas não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam a média (n=3) \pm desvio padrão 137
- Figura 5.4. Correlação entre atividade antioxidante total e teor de compostos fenólicos totais (a) e/ou flavonoides totais (b) de variedades de palma. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). ES: estação seca. EC: estação chuvosa 138

CAPÍTULO VI

- Figura 6.1. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-100003 (V1) (*O. ficus indica*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b) 159
- Figura 6.2. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200016 (V2) (*O. stricta*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b) 160
- Figura 6.3. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200008 (V3) (*O. atropes*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b) 161
- Figura 6.4. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200149 (*O. larreri*) (V7), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b) 162
- Figura 6.5. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-100004 (V4) (*N. cochenillifera*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b) 163
- Figura 6.6. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200021 (V5) (*N. cochenillifera*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b) 164
- Figura 6.7. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200205 (V6) (*N. cochenillifera*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b) 165
- Figura 6.8. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação seca 168
- Figura 6.9. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação chuvosa 168
- Figura 6.10. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, em relação ao primeiro, segundo e terceiro 169

- componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação seca
- Figura 6.11. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação chuvosa 170
- Figura 6.12. Atividade citotóxica contra células de câncer humano (a) HCT-116 (côlon retal humano), (b) SF-295 (glioblastoma humano) e (c) OVCAR-8 (ovário humano) de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*), coletadas no período seco e chuvoso. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). As barras representam a média ($n=3$) \pm desvio padrão 171

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

ABA – Ácido abscísico
ABTS^{•+} - 2,2'-azino-bis-(3-etilbezotiazolina-6-ácido sulfônico)
ATP – Trifosfato de adenosina
Ca - Cálcio
CAM - Metabolismo ácido das crassuláceas
Cu - Cobre
CV – Coeficiente de variação
DNA - Ácido desoxirribonucleico
DMSO - Dimetilsulfóxido
EE – Extrato etéreo
ENN – Extrato não nitrogenado
EROs – Espécies reativas de oxigênio
FB – Fibra bruta
FE - Ferro
GAE - Equivalente de ácido gálico
HCl – Ácido Clorídrico
IPA – Instituto Agrônomo de Pernambuco
K – Potássio
Mg - Magnésio
MF – Matéria fresca
MM – Matéria mineral
mM - milimolar
MN - Manganês
MS – Matéria seca
MTT - 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difenil brometo de tetrazolina
N - Nitrogênio
Na - Sódio
NaCl – Cloreto de sódio
Na₂CO₃ – Carbonato de sódio
NADPH – Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
P - Fósforo
PT – Proteína total
QE - Equivalente de quercetina
RL – Radicais livres
RMN – Ressonância magnética nuclear
RNA - Ácido ribonucleico
S - Enxofre
TEAC – Atividade antioxidante equivalente ao Trolox
TROLOX - 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico
UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
USA - United States of America
UV - Radiação ultravioleta
Zn – Zinco

CAPÍTULO I

Contextualização

1.1 Introdução Geral

A região semiárida do Nordeste do Brasil é caracterizada por apresentar elevadas temperaturas diurnas, e em alguns locais baixa temperaturas noturnas, alta radiação solar, baixa umidade do ar, baixa precipitação pluviométrica, com chuvas descontínuas, infrequentes, imprevisíveis, aleatórias, que se concentram em poucos meses. Os solos em sua grande maioria são rasos, com baixa capacidade de armazenamento de água, valores de pH baixos (ácidos), drenagem insuficiente, e em algumas localidades são salinizados, e com baixa disponibilidades de alguns nutrientes essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas. Todas essas características limitam o cultivo das plantas nessa área (ANDRADE *et al.*, 2006; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

Nesta região a disponibilidade de água é, portanto, um fator limitante ao crescimento e desenvolvimento das plantas e seres vivos em geral. Uma vez que, a insolação, temperatura e aporte de nutrientes, apesar de divergirem entre os locais, variam pouco dentro desses ambientes. Assim, a produção vegetal (fitomassa) depende exclusivamente da disponibilidade de água no solo. Como na região semiárida a precipitação é inconstante, e como a maioria dos solos tem restrições físicas, o acúmulo de água no solo é temporário, pois depende da precipitação, da evaporação superficial e da transpiração das plantas que ali habitam. Dessa maneira, a produção de fitomassa nesses ambientes também são efêmeros (ANDRADE *et al.*, 2006).

A principal atividade econômica da população que vive na zona rural dessas áreas é o extrativismo vegetal e a agropecuária, com destaque para a agricultura de subsistência (milho, feijão, mandioca, batata doce, batata inglesa, fava, jerimum, etc.) e a criação de animais, com destaque para a criação de bovinos, ovinos e caprinos (DUQUE, 2004).

A agricultura de sequeiro é a principal técnica de cultivo e, por isso, os agricultores convivem com altos riscos de perdas, devido, principalmente, à alta variabilidade das chuvas. A agricultura irrigada também não oferece alternativa para a maioria das áreas, uma vez que uma pequena área do semiárido do Brasil é passível de irrigação (LEITE, 2009). Assim, a pecuária tem sido uma das principais aptidões dessas regiões, considerando a irregularidade de chuvas e adaptação dos rebanhos de bovinos, ovinos e caprinos a condições de seca.

No geral, tais rebanhos são criados extensivamente, alimentando-se exclusivamente da vegetação nativa (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Assim, a pastagem nativa torna-se um importante recurso forrageiro, onde pelas características sazonais das plantas, pelas condições adversas de

clima e solo, e principalmente, por parte da vegetação ser de plantas não forrageiras, apresentam baixa capacidade de suporte, e conseqüentemente a atividade pecuária também apresenta baixos índices de produtividade. Desta forma, torna-se necessário encontrar alternativas sustentáveis de produção vegetal, que permitam a fixação do homem no campo, garantindo-lhe renda e qualidade de vida (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

Nesse contexto, a palma forrageira se torna uma boa opção de cultivo por se adaptar a ambientes com déficit hídrico. Pois, apresenta características anatômicas, morfológicas, fisiológicas e químicas que permitem seu crescimento e desenvolvimento nas condições edafoclimáticas da região semiárida do Brasil. Dentre as estratégias de adaptação a seca, a palma possui mecanismos que reduzem a perda de água ao mínimo, e absorvem água das mais ligeiras precipitações e umidade do ar, mantendo ao máximo o turgor das células (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

A palma forrageira é a cactácea mais estudada e a de maior importância econômica no mundo. Essas plantas são utilizadas para diversos fins, como alimentação humana e animal, produção de energia, medicina, cosméticos, indústria química e alimentícia, produção de corante de carmim, uso como cercas vivas, paisagismo, controle da erosão e conservação dos solos. É difícil encontrar uma planta tão distribuída e explorada, principalmente em zonas áridas e semiáridas, ou como economia de subsistência pelos produtores de pequenos animais, ou como cultura voltada para o mercado industrial (BARBERA *et al.*, 2001; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

No Brasil estima-se que existam aproximadamente 600.000 ha cultivados com palma forrageira das espécies *Opuntia ficus indica* (cv. Gigante, Redonda e IPA 20) e *Nopalea cochenillifera* (cv. Miúda), onde cerca de 550.000 ha estão concentrados na região semiárida do Nordeste, e são destinados, exclusivamente, para a alimentação dos animais, notadamente nos meses secos do ano (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2006).

A maior parte das áreas plantadas com palma no semiárido do Nordeste é unicamente para a produção de forragem para os animais, isso se deve aos fortes incentivos governamentais com políticas públicas, pesquisas e extensão rural, apoio de agentes financeiros concedendo créditos rurais, do setor privado, indústrias de processamento de leite, sindicatos e conselhos municipais de desenvolvimento sustentável (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2006).

A importância da palma, como reserva forrageira, é significativa na sustentabilidade da pecuária regional, segmento fortemente atingido pela escassez de alimentos. Constitui-se numa

das principais forrageiras para o gado leiteiro na época seca, principalmente nos estados de Pernambuco, Alagoas, Paraíba e Sergipe (LIMA *et al.*, 2009). Nos últimos anos, com ocorrência de secas prolongadas, associadas à falta de forragem nesse período, e os elevados preços pagos para aquisição e transporte de alimentos vindos de outras regiões (Sul, Sudeste e Centro Oeste), a palma está ganhando destaque também em outros estados como Bahia, Ceará, Maranhão, Minas Gerais, Piauí e Rio Grande do Norte.

Nos últimos anos o governo do Brasil tem feito esforços para diversificar o uso da cultura, com o intuito de agregação de valor a seus produtos e subprodutos, gerando emprego e renda para a melhoria da qualidade da população que vivem nessas áreas. O incentivo a agroindustrialização, com a fabricação de salmoura, picles, gelatina, sucos, adesivos, borracha sintética, anticorrosivos, papel, cola para etiquetas e selo, laca natural para tratamento de madeira, fibras para artesanato, corante, mucilagem, antitranspirante xampus, sabonetes e artigos medicinais. Além, do estímulo à introdução na alimentação do nordestino, com o desenvolvimento de pratos e sobremesas com os cladódios, como guisados, ensopados, tortas, sopas, saladas, sucos, geleias, doces e balas; e o consumo dos frutos *in natura*, sucos, geleias e doces em calda (GURJÃO *et al.*, 2013; OLIVEIRA, 2011; PEREIRA; LOPES, 2011).

Ultimamente, o consumo de alimentos nutritivos, que possam trazer benefícios à saúde humana e animal está sendo muito procurados e difundidos pelo mundo. Os cladódios de palma têm sido considerados, por muito tempo, uma importante fonte de nutrientes para a alimentação humana e animal na América Latina e no mundo. Além do mais, os cladódios possuem propriedades benéficas para a saúde animal e humana e têm sido comprovados os seus efeitos cicatrizantes, antiinflamatórios, antiulcerogênicos e anticâncer, hepatoprotetores, condroprotetores (osteoartrites), hipoglicemiante, diuréticos, antigástricos, antiaterosclerose, prevenção contra diabetes, hipertrofia prostática, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, desordens alérgicas, fragilidade capilar, melhora a agregação plaquetária humana, atua contra infecções de bactérias, fungos e vírus, entre outros benefícios (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014; MARTINS, 2011; SHEDBALKAR *et al.*, 2010).

Por apresentar uma grande diversidade genética nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, com cerca de 300 espécies (MONDRAGÓN-JACOBO; PÉREZ-GONZÁLEZ, 2001), existe a necessidade de se caracterizar as variedades cultivadas no Brasil a fim de se obter informações nutricionais e propriedades bioativas. Assim, objetivou-se com este estudo caracterizar a variabilidade genética e temporal do perfil químico e nutricional dos cladódios de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida

do Brasil; avaliar o potencial antioxidante e citotóxico de extratos etanólico bruto de cladódios dessas variedades, contra células de câncer humano; além de determinar a correlação e importância de características químicas, nutricionais e fenotípicas na diversidade entre os genótipos.

1.2 Referencial Teórico

1.2.1 A palma forrageira

1.2.1.1 Adaptação ecológica e químicas as regiões áridas e semiáridas

Em regiões áridas e semiáridas a disponibilidade de água é fator limitante ao crescimento e desenvolvimento das plantas e seres vivos, em geral. No entanto, a palma forrageira desenvolveu estratégias de adaptação para sobreviver nesses ambientes, graças a mudanças anatômicas, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, que permitem absorver água da mais insignificante chuva, além de reduzir a perda de água ao mínimo, mantendo o turgor das células (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Entre as adaptações anatômicas, está a presença de cutículas espessas, que evitam a perda de água pela transpiração, e ajuda na condução da umidade atmosférica através da superfície do caule (cladódio), para os gloquídeos e espinhos (folhas modificadas) que possuem microcavidades em sua extremidade que absorvem água. Além do mais refletem parte da radiação solar, reduzindo a temperatura do cladódio e a transpiração. As células possuem vacúolos grandes que acumulam volumosas quantidades de água e outros compostos químicos que sevem como osmorreguladores e sequestradores de radicais livres (íons, osmólitos compatíveis, moléculas antioxidante, etc.). Os estômatos estão em número reduzido e possuem aberturas pequenas, próximos as superfícies inferiores e superiores dos cladódios. Os arranjos entre as células do mesófilo são próximos, evitando a perda de CO₂ e água durante o dia. O clorênquima (parênquima que contém clorofila) é muito aquoso e desenvolvido, com a presença de drusas (cristais de oxalato de cálcio), que tem um importante papel na retenção de água, pois baixa a pressão osmótica, contribuindo para baixar o potencial hídrico das células (HILLS, 2001; SCHEINVAR, 2012).

Entre as adaptações morfológicas estão as raízes muito ramificadas que podem alcançar vários metros de comprimento, dispostas próximo a superfície do solo para absorver água de chuvas leves e até do orvalho das noites, através das suas regiões pilíferas. Além disso, as raízes para evitar a perda de água em solo seco (déficit hídrico) se cobrem com uma camada

relativamente impermeável à água e algumas morrem, formando uma camada de cicatrização, reduzindo a condutividade hidráulica desse órgão. Outra característica é a substituição das raízes mortas ou desidratadas, logo após as primeiras horas do retorno da umidade do solo. Os caules (cladódios) são espessos e suculentos, e armazenam grandes quantidades de água e carboidratos, que serviram para passar o período de déficit hídrico; além do mais, nos cladódios estão presentes aréolas com gloquídeos e espinhos (folhas modificadas), que reduzem a área de contato da epiderme com a radiação solar, diminuindo a temperatura e a superfície de evapotranspiração, evitando a perda de água; ademais, essas folhas modificadas permitem a condensação do vapor de água e o escoamento da água em direção a suas extremidades, que possuem microcavidades ligadas aos vasos do xilema (HILLS, 2001; SCHEINVAR, 2012).

Entre as adaptações fisiológicas está o processo fotossintético metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), onde as plantas abrem seus estômatos a noite para fixação do CO₂ em fosfoenolpiruvato para formar o oxaloacetato, que é armazenado sob a forma de ácido málico, que sofre reações e é transformado em moléculas de glicose, no período diurno. A temperatura amena a noite faz com que se reduzam as diferenças entre o teor de vapor de água entre os cladódios e o ar que os rodeiam, evitando a perda de água no processo de fixação de CO₂, uma vez que pela mesma cavidade que é absorvido o CO₂ acontece a transpiração e perda de água da planta (NOBEL, 2001). Outra característica é a perda de água preferencialmente pelas células do parênquima, enquanto é mantida a hidratação das células do clorênquima (parênquima clorofiliano ou fotossintetizante), quando as plantas estão sob déficit hídrico, permitindo a continuação da fotossíntese mesmo sob estresse hídrico, uma vez que, esse tecido possui grande quantidade de cloroplastos e organelas citoplasmáticas dotadas de clorofila (SAMPAIO *et al.*, 2005). As raízes enviam sinais químicos para a parte aérea que agem diretamente no comportamento dinâmico dos estômatos, além de estimular a expansão do sistema radicular para zonas mais profundas e úmidas do perfil do solo quando expostas ao déficit hídrico, esse processo não está caracterizado nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, e precisa de estudos para determinar quais moléculas participam desses processos, provavelmente o ABA está envolvido. O efeito geral desse hormônio é promover o crescimento da raiz pela inibição da síntese de etileno durante o estresse hídrico, e atuar no fechamento estomático, auxiliando a planta a absorver água, e reduzir a perda de água pela transpiração sob condições de déficit hídrico (NOBEL; ZUTTA, 2008; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Entre as adaptações bioquímicas estão a produção e o acúmulo de metabólitos primários e secundários. O acúmulo de metabólitos primários como os aminoácidos (prolina, triptofano,

fenilalanina, histidina), os carboidratos (sacarose, rafinose, frutose, maltose, trealoses, manitol, sorbitol, ribitol, inositol), o composto de amônio quaternário (glicina betaína), estão associados ao ajustamento osmótico das células expostas ao déficit hídrico. Os compostos fenólicos (fenilpropanoides, flavonoides, isoflavonoides, antocianinas, cumarinas, ligninas, taninos), terpenos (tocoferol, saponinas, ácido betulínico, carotenoides) e compostos nitrogenados não proteicos (alcalóides, glucosinolatos, ácido γ -amino butírico-GABA) contribuem tanto para o equilíbrio redox, por eliminar espécies reativas de oxigênio (EROs) (moléculas altamente danosas à células), e por manter o turgor, e estabilizar proteínas e membranas celulares de plantas expostas ao déficit hídrico, salinidade e temperaturas elevadas, fatores de estresse a que plantas das regiões semiáridas estão sujeitas (BARTWAL *et al.*, 2013; RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; RODZIEWICZ *et al.*, 2014).

1.2.1.2 Importância para o semiárido brasileiro

A palma forrageira é a cactácea mais estudada e a de maior importância econômica no mundo. Essas plantas são utilizadas para diversos fins, alimentação humana, alimentação animal, produção de energia, medicina, cosméticos, indústria química e alimentícia, produção de corante de carmim, uso como cercas vivas, paisagismo, controle da erosão e conservação dos solos. É difícil encontrar uma planta tão distribuída e explorada, principalmente nas zonas áridas e semiáridas, ou como economia de subsistência pelos produtores de pequenos animais, ou como cultura voltada para o mercado industrial (BARBERA *et al.*, 2001; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

A expansão do cultivo da palma em regiões semiáridas do mundo, em especial nos sistemas de produção pecuário, se deve ao fato dessa planta ser adaptada a esses ambientes, além do mais, a elevada produção de forragem de qualidade e de baixo custo, torna-se atraente em comparação a outras forrageiras cultivadas (SANTOS *et al.*, 2001).

No Brasil, estima-se que existam, aproximadamente, 600.000 ha cultivados com palma forrageira das espécies *Opuntia ficus indica* (cv. Gigante, Redonda e IPA 20) e *Nopalea cochenillifera* (cv. Miúda), onde desses, cerca de 550.000 ha estão concentrados na região semiárida do Nordeste, e são destinados, exclusivamente, para a alimentação dos animais, notadamente nos meses secos do ano. Os outros 50.000 ha são cultivados em São Paulo, nos municípios de Valinhos, Jundiaí, Mogi das Cruzes, Campinas e Itapeva e são cultivados tão somente para a produção de frutas para os principais supermercados das capitais brasileiras, e

exportadas para a Europa e Estados Unidos, a preço de R\$ 27,60 a 30,00/kg (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013; PEREIRA; LOPES, 2011).

A maior parte das áreas plantadas com palma no semiárido do Nordeste é unicamente para a produção de forragem para os animais, isso se deve aos fortes incentivos governamentais com políticas públicas, pesquisas e extensão rural, apoio de agentes financeiros concedendo créditos rurais, do setor privado, indústrias de processamento de leite, sindicatos e conselhos municipais de desenvolvimento sustentável. A pesquisa e extensão tiveram grande destaque nos estudos realizados com a cultura, objetivando maiores produtividades, devido a seleção de genótipos produtivos, tolerantes aos ambientes, resistentes a cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*), controle de pragas e doenças, melhoramento genético, técnicas de cultivo, tratos culturais, adubação, irrigação, colheita e pós-colheita; além do valor nutricional de dietas para ruminantes (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2006).

A importância da palma, como reserva forrageira, é significativa na sustentabilidade da pecuária regional, segmento fortemente atingido pela escassez de alimentos. A mesma constitui-se numa das principais forrageiras para o gado leiteiro na época seca, principalmente nos estados de Pernambuco, Alagoas, Paraíba e Sergipe (LIMA *et al.*, 2009). Nos últimos anos com os adventos das secas prolongadas, culminada com a falta de forragem nesse período, e os elevados preços pago para aquisição e transporte de alimentos de outras regiões (Sul, Sudeste e Centro Oeste), a palma está ganhando destaque em outros estados como Bahia, Ceará, Maranhão, Minas Gerais, Piauí e Rio Grande do Norte.

Levantamentos realizados no sertão e agreste de Pernambuco revelaram que 85% e 32% das propriedades rurais, respectivamente, cultivam a palma. No agreste da Paraíba esse índice chega a 98%, sendo uma das principais fontes de alimentação para os ruminantes. A área média destinada a essa cultura é de 4,0 ha, variando de 0,5 até 30 ha, dependendo da extensão de terra que o agricultor tem disponível para as lavouras (LEITE, 2009).

De acordo com Santos *et al.* (2006) e Farias *et al.* (2005), a palma se destaca como um volumoso suculento muito importante para os rebanhos, especialmente nos períodos de secas prolongadas, possuindo a maior produção de matéria fresca (77,8 a 180 t.ha⁻¹.ano⁻¹ MF) que as demais forrageiras, e por não precisarem ser armazenadas como silagem ou feno, mantendo seu valor nutritivo durante todo o período de estiagem. Tornando-se uma alternativa para pecuaristas e agricultores de regiões áridas de todo o mundo. Ademais, após a colheita os

cladódios podem ser armazenados por 16 dias sem perda significativa de matéria seca e carboidratos solúveis.

A composição química da palma forrageira varia segundo a espécie, a cultivar, a idade do cladódio, condições edafoclimáticas, adubações e tratos culturais, no geral suas principais características são: alto conteúdo de água, minerais e carboidratos solúveis, vitaminas, elevada digestibilidade, alta palatabilidade e baixos teores de matéria seca, fibra bruta, proteínas e fósforo, que corrigidos com adição de alimentos fibrosos e proteicos à dieta animal, permite produção elevada no período da estação seca. Além de possuir baixo percentual de parede celular e alta concentração de carboidratos não fibrosos, e compostos bioativos (carotenoides, ácidos graxos, compostos fenólicos, alcaloides) (GOMES, 2011; SÁENZ, 2006b; SANTOS *et al.*, 2006).

Segundo Santos *et al.* (2006), a palma apesar de ter um bom valor nutritivo, ela não pode ser a única fonte de alimento para os animais, notadamente vacas leiteiras. Ela deve ser complementada com volumosos como silagens, fenos, restos de cultura, bagaço de cana, pasto nativo, etc., para evitar a ocorrência de diarreias (não patológicas) que normalmente ocorrem quando se usa exclusivamente a palma na alimentação.

A palma não é somente importante nutricionalmente, mas é uma forma de suprir água aos animais. Seus cladódios contêm em média 90% de água que representa para o semiárido, uma valiosa contribuição para o acúmulo e suprimento desse líquido para os animais. Isso permite que o consumo de água ($L \cdot dia^{-1}$) pelos animais seja reduzido em 70 a 90%, diminuindo a dependência de recursos hídricos já escassos no período seco (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

Além do déficit hídrico a salinidade dos solos é um dos principais fatores ambientais que limitam a produtividade agrícola devido aos seus efeitos no crescimento e desenvolvimento vegetal. A região nordeste do Brasil é a maior região com áreas salinizadas, devido à baixa precipitação, alta evapotranspiração, drenagem deficiente e utilização de água de má qualidade em cultivos irrigados (ALVES, 2009).

A palma é considerada uma cultura moderadamente resistente à salinidade dos solos ($\geq 4,0$ dS m^{-1} ou 40 mM NaCl). Cony *et al.* (2006), estudando o efeito do estresse salino (0, 25, 50 e 100 mM NaCl) em *O. spinulifera* e *O. robusta* não detectaram diferenças no número de cladódios, conteúdo de matéria seca (MS) da parte aérea ou raiz quando as plantas são expostas a concentrações de 50 mM NaCl. No entanto, aqueles autores observaram reduções de 28 e 45% MS das raízes quando *O. spinulifera* foram expostas a 25 e 50 mM NaCl),

respectivamente. Todavia, a exposição das plantas a 100 mM NaCl reduziu o número de cladódios (33 e 20%), matéria seca da parte aérea (55 e 55%) e raízes (70 e 61%) das duas espécies *O. robusta* e *O. spinulifera*, respectivamente. Franco-Salazar e Véliz (2007) e Nerd *et al.* (1991) estudando o estresse salino (0, 50, 100, 150 e 200 mM NaCl) em *Opuntia ficus indica*, relataram que visualmente as plantas não apresentaram danos (clorose, amarelecimento ou necrose), além do mais, o crescimento com base na MS teve um leve aumento. No entanto, foi observado redução no teor de água e na suculência, que resultou em cladódios mais flácidos na concentração de NaCl acima de 100 mM, também foram afetadas a razão de MS da raiz/caule, em salinidades acima de 150 mM.

Outra característica que pode ser de suma importância é a capacidade dessa planta de ser utilizada na conservação e proteção dos solos (ALBUQUERQUE; SANTOS, 2005). O seu sistema radicular se caracteriza por ser superficial, com distribuição horizontal que pode chegar a 30 cm de profundidade e 4 a 8 m de comprimento (HILLS, 2001). A massa radicular se concentra na profundidade de 0-18 cm (96%), registrando-se somente cerca de 4% na faixa de 18 a 36 cm (ZÚÑIGA-TARANGO *et al.*, 1999). Essas características garantem uma boa estrutura e sustentação do solo, evitando que o mesmo seja arrastado pelo vento ou pelas chuvas intensas, evitando a perda da camada superficial do solo (NEFZAOU; SALEM, 2001). Além do mais, essas raízes estão associadas à micorrizas ou bactérias nitrificantes que absorvem o nitrogênio do ar, enriquecendo o solo e reduzindo os efeitos da desertificação (SCHEINVAR, 2012).

Assim, seu cultivo ganha cada vez mais importância na prevenção do avanço da desertificação, onde com o uso de tecnologias apropriadas esses plantios garantem desenvolvimento sustentáveis. Evitando a exposição direta do solo ao vento e a água da chuva, pela cobertura do solo. Além de enriquecer o solo com nutrientes (fixação biológica); e acumular água no solo, com o uso de terraços de palma em terrenos com declive.

Nos últimos anos o governo do Brasil tem feitos esforços para diversificar o uso da cultura. Aos poucos a palma vem sendo introduzida na alimentação do nordestino. O reconhecimento de seu valor nutritivo vem motivando o desenvolvimento de pratos e sobremesas com os cladódios, como guisados, ensopados, tortas, sopas, saladas, sucos, geleias, doces e balas. Além do consumo dos frutos *in natura*, sucos, geleias e doces em calda (GURJÃO *et al.*, 2013; OLIVEIRA, 2011; PEREIRA; LOPES, 2011).

No estado da Bahia em alguns municípios, principalmente na chapada Diamantina, Canudos, Rio de Contas, Valente e São Domingos a palma é utilizada na alimentação humana.

Os brotos são empacotados e comercializados nas feiras livres, como verduras para diversos pratos da culinária. O “cortadinho de palma” está entre as comidas típicas mais apreciadas pelos moradores e turistas da região. Esse prato é considerado trivial e indispensável para ser acompanhado com feijão e arroz, servidos quase todos os dias na mesa dos moradores dessas regiões. Além do consumo in natura, os brotos são processados em salmoura ou vinagre, pré-cozidos, feito geleias, doces e balas. Os frutos são utilizados para a produção de doces, comportas e geleias (CUNHA, 2012; GUEDES, 2002; GURJÃO *et al.*, 2013; OLIVEIRA, 2011).

No estado da Paraíba, municípios de Juazeirinho e São Mamede, são desenvolvidos produtos dos mais variados, como artesanatos, comidas, doces, licor, geleia, bombons, conservas, cosméticos (shampoo, sabonetes e cremes para as mãos), etc. (PEREIRA; LOPES, 2011).

É inegável o potencial significativo dessa cultura na contribuição com o desenvolvimento da zona semiárida nordestina, onde sua exploração racional e econômica tem ajudado na conservação do meio ambiente e segurança alimentar e nutricional dos rebanhos e da população em geral (CHIACCHIO *et al.*, 2006). Além do mais, o incentivo da agroindustrialização de produtos e subprodutos à base de palma forrageira, como a fabricação de salmoura, picles, gelatina, sucos, adesivos, borracha sintética, anticorrosivos, papel, cola para etiquetas e selo, laca natural para tratamento de madeira, fibras para artesanato, corante, mucilagem, antitranspirante, xampus, sabonetes e artigos medicinais seriam uma boa opção para a agregação de valor à produção, gerando emprego e renda para a melhoria da qualidade da população que vivem nessas áreas.

1.2.1.3 Origem, classificação taxonômica e distribuição geográfica da palma forrageira

A palma é originada da América tropical e subtropical, mas, atualmente encontra-se difundida em uma grande variedade de condições edafoclimáticas nos continentes americano, africano, asiático, europeu e oceânico, nas formas cultivada e silvestre (SÁENZ *et al.*, 2006a).

A palma pertence à divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Caryophylliales, família *Cactaceae*, subfamília *Opuntioideae*. Sua taxonomia é muito difícil por várias razões, inclusive porque seus fenótipos apresentam variação segundo as condições ambientais, além disso, são frequentes os casos de poliploidia que existe em um grande número de populações que se reproduzem vegetativamente e sexualmente, e a existência de muitos

híbridos interespecíficos, já que quase todas as espécies florescem durante o mesmo período do ano e não existe barreiras biológicas que as separem (ANDERSON, 2001; SCHEINVAR, 2001; 2012).

O nome científico do gênero *Opuntia* foi atribuído pela Tournefort em 1700, por sua semelhança com uma planta espinhosa que cresce na aldeia de *Opus* região de Leocrid, Beócia, na Grécia. Esse gênero inclui 11 subgêneros, *Opuntia*, *Consolea*, *Austrocylindropuntia*, *Brasiliopuntia*, *Corynopuntia*, *Cylindropuntia*, *Grusonia*, *Marenopuntia*, *Nopalea*, *Stenopuntia* e *Tephrocactus* (SCHEINVAR, 2001). Vários autores divergem na colocação taxonômica da palma dentro da subfamília *Opuntioideae*. Alguns autores consideram todas as espécies de palma dentro do gênero *Opuntia*, outros propõem a divisão dessas plantas em dois gêneros *Opuntia* e *Nopalea* (SÁENZ *et al.*, 2006a; SCHEINVAR, 2001 e 2012).

As palmas inicialmente foram introduzidas na Espanha, através do México, e foram distribuídas por toda a bacia do Mediterrâneo. As primeiras plantas de palmas foram provavelmente cultivadas próximo à Sevilla e Cádiz, pontos finais das viagens para a Índia (BARBERA, 2001). Assim, existem atualmente plantas de palma na forma selvagem ou cultivada no sul da Espanha, Portugal e em toda a bacia do Mediterrâneo (França, Grécia, Itália, Turquia e Israel). Os árabes levaram da Espanha para a África, espalhando-se para Argélia, Egito, Eritréia, Etiópia, Líbia, Marrocos e Tunísia. No entanto, a sua distribuição é ainda maior; no continente Americano, se encontra no Canadá, Chile, Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Chile, Estados Unidos da América, México, Peru, Venezuela e vários países da América Central e do Caribe; em outros continentes se encontram na Angola, África do Sul, Austrália e Índia, existindo espécies tanto cultivadas quanto silvestres (SÁENZ *et al.*, 2006a).



Figura 1.1. Distribuição de *Opuntia* spp. no mundo. (Sáenz *et al.*, 2006a)

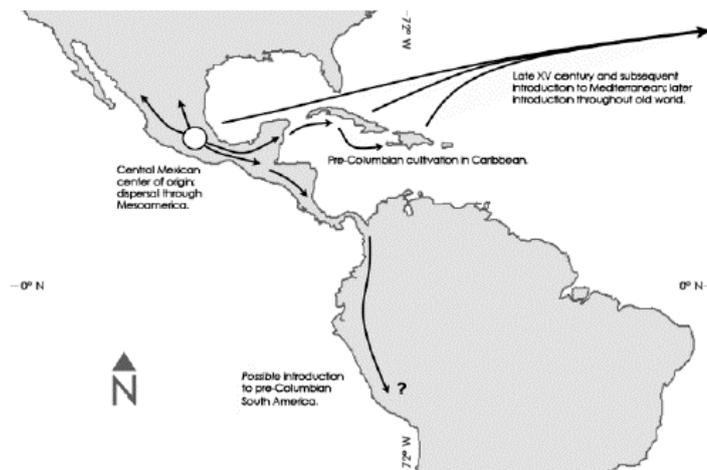


Figura 1.2. Disseminação de *Opuntia* spp. no mundo. (Griffth, 2004)

No Brasil a palma foi introduzida pelos portugueses na época da colonização, em 1818, provavelmente trazida das ilhas Canárias para a cidade do Rio de Janeiro, visando a produção de corante vermelho, usado na indústria, no qual é produzido pela cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiaea*) que se desenvolvem em seus cladódios (SIMÕES *et al.*, 2005). Os relatos indicam que o frei José Mariano da Conceição Veloso foi o primeiro a reunir informações sobre técnicas de cultivo, manejo e produção de carmim (GOIS *et al.*, 2013b).

Além disso, esses pesquisadores relatam em seus estudos que o Brasil fez duas importações de mudas de palma, uma em 1877, através do sueco Herman Theodor Lundgren e do cearense Delmiro Goveia, que tinham fábricas de tecido em Pernambuco, Alagoas e Paraíba. A outra aconteceu em 1915 pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) para os estados da Bahia, Paraíba e Ceará como incentivo à produção de forragem adaptadas ao déficit hídrico (SIMÕES *et al.*, 2005). Somente durante a grande seca de 1932, por iniciativa do Ministro da Viação e Obras Públicas, o paraibano José Américo de Almeida, o cultivo dessa forrageira foi disseminado para todo o Nordeste, do Piauí à Bahia (NASCIMENTO, 2008).



Figura 1.3. Distribuição de *Opuntia* spp. pelo nordeste do Brasil

1.2.1.4 Descrição da planta

As palmas têm sido descritas por numerosos autores (BRAVO, 1978; PIMIENTA, 1990; SUDZUKI *et al.*, 1993; HILLS, 2001; SCHEINVAR, 2001; NOBEL; BOBICH, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2010) portanto, aqui se faz uma descrição resumida das diferentes partes da planta segundo Sáenz *et al.* (2006b).

As palmas são plantas arbustivas, rasteiras ou eretas que podem alcançar 3,5 a 5,0 metros de altura. O sistema radicular é extenso, densamente ramificado, rico em raízes finas absorventes e superficiais.

Os cladódios (caules modificados) apresentam forma de raquete ovoide ou alongada podendo atingir 60-70 cm de comprimento. Em ambos os lados estão presentes gemas (auréolas), que têm a capacidade de desenvolver novos cladódios, flores e raízes.

As auréolas apresentam em sua cavidade espinhos (folhas modificadas), que podem ser de dois tipos: pequenas, agrupadas em grande número (gloquídeos), ou grandes. Os caules (cladódios) se tornam lignificados ao longo do tempo e podem se transformar em caules lenhosos, rachados, de coloração ocre-branco a acinzentado.

As flores são sésseis, hermafroditas e solitárias, se desenvolvem normalmente na parte superior dos cladódios. Sua coloração é variável, vermelho, amarelo, branco, entre outras cores.

O fruto é uma baga falsa com ovário inferior simples e carnosos. A forma e o tamanho são variáveis, podem ser ovoides, redondos, elípticos e oblongos, com as extremidades achatadas, côncavas ou convexas. As cores são diversas, vermelho, alaranjado, roxo, amarelo e verde, com a polpa também das mesmas cores. A epiderme é semelhante ao cladódio, incluindo as auréolas com numerosos gloquídeos e espinhos, que ao contrário dos cladódios persistem

mesmo após o amadurecimento do fruto. A casca do fruto varia grandemente em espessura e também na quantidade de polpa. Esta última apresenta muitas sementes, viáveis e abortadas.

1.2.1.5 Composição química e nutricional dos cladódios

O conteúdo e a composição química e nutricional dos cladódios de palma variam de acordo com diversos fatores, entre eles, das condições edafoclimáticas do local de cultivo, da estação do ano, da idade da planta, das espécies e variedades estudadas, entre outros. Os cladódios são constituídos, principalmente, por água (85,6 a 95,00% MF), carboidratos (42,40 a 80,90% MS), fibras (6,20 a 77,5% MS), cinzas (5,20 a 23,00% MS), proteínas (1,13 a 19,00% MS) e lipídeos (0,10 a 4,00% MS) (BATISTA *et al.*, 2003; BENSADÓN *et al.*, 2010; CHAHDOURA *et al.*, 2015; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2010; GUEVARA-FIGUEROA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012; STINTZING; CARLE, 2005).

Os carboidratos consistem, principalmente, de uma mistura de mucilagem e pectina, polissacarídeos que tem a capacidade de reter água, por isso, são muito importantes na resistência ao déficit hídrico nas plantas, além, de açúcares redutores (6,40 a 362,89 mg.g⁻¹ MS). Os principais açúcares encontrados são, os monossacarídeos, ramnose (1,96%), manose (3,76%), galactose (9,28%), xilose (5,14%), arabinose (10,92%), glicose (42,20%), frutose (40,90%), fucose (0,20%), ácido urónico (21,63%), ácido galacturônico (26,53%), o oligossacarídeo, sacarose (18,22%), e os polissacarídeos, amido e celulose (GINESTRA *et al.*, 2009; RAMÍREZ-MORENO *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2010; STINTZING; CARLE, 2005).

As cinzas são compostas principalmente por potássio (25,90 a 2.250,00 g.kg⁻¹ MS), cálcio (17,00 a 375,00 g.kg⁻¹ MS), magnésio (8,00 a 725,00 g.kg⁻¹ MS), sódio (0,75 a 142,50 g.kg⁻¹ MS), fósforo (0,70 a 6,00 g.kg⁻¹ MS), ferro (40,30 a 750,00 mg.kg⁻¹ MS), manganês (62,00 a 984,41 mg.kg⁻¹ MS), zinco (22,00 a 120,80 mg.kg⁻¹ MS), cobre (4,06 a 41,25 mg.kg⁻¹ MS) e enxofre (1,50 a 5,10 g.kg⁻¹ MS) (BATISTA *et al.*, 2003; BENSADÓN *et al.*, 2010; CHAHDOURA *et al.*, 2015; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2010; GUEVARA-FIGUEROA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012; STINTZING; CARLE, 2005).

As proteínas são compostas pelos aminoácidos alanina (0,07 a 0,54 mg.g⁻¹ MS), arginina (0,28 a 2,77 mg.g⁻¹ MS), asparagina (0,18 a 6,02 mg.g⁻¹ MS), ácido aspártico (0,25 a 0,52 mg.g⁻¹ MS), ácido glutâmico (0,31 a 0,64 mg.g⁻¹ MS), glutamina (2,03 a 6,35 mg.g⁻¹ MS), cistina (0,12 mg.g⁻¹ MS), glicina (0,06 a 3,28 mg.g⁻¹ MS), histidina (0,24 a 0,49 mg.g⁻¹ MS), isoleucina (0,22 a 2,49 mg.g⁻¹ MS), leucina (0,15 a 2,27 mg.g⁻¹ MS), lisina (0,29 a 0,61 mg.g⁻¹ MS), metionina (0,16 a 0,34 mg.g⁻¹ MS), fenilalanina (0,20 a 3,02 mg.g⁻¹ MS), serina (0,38 a 0,79

mg.g⁻¹ MS), treonina (0,24 a 2,81 mg.g⁻¹ MS), tirosina (0,08 a 15,02 mg.g⁻¹ MS), triptofano (0,06 a 0,12 mg.g⁻¹ MS), valina (0,44 a 3,73 mg.g⁻¹ MS), prolina (5,85 a 6,11 mg.g⁻¹ MS), ácido aminobutírico (traços), carnosina (traços), citrulina (traços), ornitina (traços) e taurina (traços) (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014; LÓPEZ-CERVANTES *et al.*, 2011; STINTZING; CARLE, 2005).

Os lipídeos são compostos pelos ácidos graxos, láurico (1,33 a 1,92%), miristoleico (0,91 a 1,07%), mirístico (0,56 a 1,96%), pentadecanóico (0,46%), pentadecenóico (0,21%), palmitoléico (0,24 a 0,57%), palmítico (13,87 a 30,70%), margarico (1,01%), heptadecanóico (0,17%), linoléico (25,05 a 34,87%), linolênico (21,58 a 33,23%), linoelaidico (0,18%), gadoelico (0,18%), oléico (9,48 a 32,83%), cis-octadecenóico (0,82%), vacênico (0,53 a 0,65%), esteárico (3,33 a 4,04%), araquidônico (0,85 a 1,11%), gondoico (0,18 a 0,41%) e beénico (1,02 a 4,00%) (ABIDI *et al.*, 2009; CARREIRA *et al.*, 2014; LÓPEZ-CERVANTES *et al.*, 2011).

Além dessas substâncias estão presentes nos cladódios de palma glicoproteínas, ácidos orgânicos (málico, oxálico, cítrico, malônico, tartárico, succínico, piscídico, 2-E-feruloil-piscídico, fórbico, eucomico, n-butileucomato e metileucomato), vitaminas (ácido ascórbico, tiamina, riboflavina e niacina), compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides e taninos), terpenos (carotenoides, esteróis e saponinas) e compostos nitrogenados não proteicos (alcaloides e poliaminas) (BARI *et al.*, 2012; BENSADÓN *et al.*, 2010; CORRAL-AGUAYO *et al.*, 2008; EL-MOSTAFA *et al.*, 2014; RAMÍREZ-MORENO *et al.*, 2013; STINTZING; CARLE, 2005).

1.2.1.5.1 Composição dos metabólitos secundários (compostos bioativos) dos cladódios

Durante muitos anos foi desconhecida a importância adaptativa da maioria dessas substâncias produzidas pelas plantas que não pareciam ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento (fotossíntese; respiração; transporte e translocação de água e solutos; síntese de proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos; assimilação de nutrientes; diferenciação celular, etc.) e eram considerados produtos finais do metabolismo, ou mesmo resíduos, sem função aparente. Todavia no final do século XIX e início do XX, os químicos orgânicos, interessados nessas substâncias como drogas medicinais, venenos, aromatizantes e materiais industriais, baseando-se nas suas estruturas químicas e biológicas começaram a aprofundar seus estudos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Atualmente, sabe-se que os metabólitos secundários, também chamados de compostos bioativos ou compostos naturais têm importantes funções nos ecossistemas como moléculas de sinal, reconhecimento, defesa e inibição ou ainda como substâncias venenosas. Nas plantas, essas substâncias atuam, principalmente, como reguladores no crescimento e desenvolvimento, na sinalização sexual, e na defesa vegetal contra estresses bióticos e abióticos (BUCHANAN *et al.*, 2009). Nos seres humanos e animais essas moléculas têm um grande potencial na manutenção da saúde dos indivíduos (NAZARENO, 2013).

Os metabólitos secundários resumidamente podem ser divididos em três grandes grupos quimicamente divergentes: os compostos fenólicos, os terpenos, e compostos nitrogenados não proteicos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe de substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por uma hidroxila (TAIZ; ZEIGER, 2013). Dentre as substâncias que foram encontradas nos cladódios de palma estão os ácidos fenólicos, flavonoides e taninos. O conteúdo de ácidos fenólicos nos cladódios da palma varia de 0,318 a 249,10 mg.g⁻¹ MS (BARI *et al.*, 2012; GALLEGOS-INFANTE *et al.*, 2009; GUEVARA-FIGUEROA *et al.*, 2010; SANTOS-ZEA *et al.*, 2011), o de flavonoides de 0,002 a 84,45 mg.g⁻¹ MS (GALLEGOS-INFANTE *et al.*, 2009; SANTOS-ZEA *et al.*, 2011) e de taninos de 1,90 a 30,18 mg.g⁻¹ MF (CASTILLO *et al.*, 2010; MENDEZ *et al.*, 2012).

Dentre os principais compostos fenólicos identificados estão os ácidos fenólicos, Opuntiol (2-hidroximetil-4-metoxi- α -pirona), p-hidroxibenzoico, 1-heptanecanol, ferúlico, piscídico, eucomico, p-hidroxibenzaldeído, 3,4-dihidroxibenzoico, 4-hidroxibenzoico, vanílico, málico, etil-3,4-dihidroxibenzoico, 4-etoxi-6-hidroximetil- α -pirona, ácido gálico, cumárico, salicílico, siringico, cafeico, sinápico, zatarosideo-A, n-butil- β -D-frutopiranosideo, 4-O-glucosil-mapico; os flavonoides, isorametina-3-glucosideo, isorametina-3-rutinosideo, isorametina-3-galactosideo, isorametina-3-O- β -D-galactosil-4'-O- β -D-glucosideo, isorametina-3,4'-di-O- β -D-glucosideo, isorametina-3-O- β -D-(6-O- α -L-ramnosil)-glucosil-4'-O- β -D-glicosideo, isorametina-glucosil-ramnosil-ramnosideo, isorametina-glucosil-ramnosil-(xilosideo ou arabinosideo), isorametina-glucosil-ramnosil-pentosideo, isorametina-glucosil-pentosideo, isorametina-glucosil-ramnosideo, (isorametina + 1 hexose + 1 metilpentose + pentose), (isorametina + 1 hexose + 1 pentose), isorametina-2-hexose-deoxihexose, isorametina-3-O- β -D-(6-O- α -L-ramnosil)-galactosideo, isorametina-3-O- β -D-(6-O- α -L-ramnosil)-glucosideo, isorametina-3-O-neohesperidosideo, isorametina-3-O-rutinosil-4'-O- β -D-glucosideo, isorametina-3-O-(2,6-diramnosil)-glucosideo, isorametina-3-O-(6'-O-E-

feruloil)-neohesperosídeo, 2,3-dihidrocampferol, metil-3-campferol, campferol-7-O- β -D-glucopiranosídeo, campferol-7-O- β -D-glucopiranosil-(1-4)- β -D-glucopiranosídeo, campferol-7-O-glucosídeo, campferol-hexose-deoxihexose, campferol-glucosil-ramnosídeo, campferol-2-hexose, campferol-3-metileter, 3,3-dimetilquercetina, quercetina-3-ramnosídeo, quercetina-3-O-metiléter, metil-3-quercetina, quercetina-hexose, quercetina-hexose-deoxihexose, 2,3-dihidroquercetina, isorametina, campferol, quercetina, rutina (quercetina-3-rutinosídeo), mirecetina, vitexina, orientina, eriodictiol, taxifolina (dihidroxiquercetina), aromadendrina (dihidroxicampferol), mangaslina (quercetina-3-[2G-ramnosilrutinosídeo]), nicotiflorina (campferol-3-O-rutinosídeo), narcissina (isorametina-3-O-rutinosídeo), isoquercetina (quercetina-3-O-glucosídeo), isoquercitrina (quercetina-3-O- β -glucopiranosídeo), protoantocianidinas; e taninos (hidrolisados e condensados) (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014; GUEVARA-FIGUEROA *et al.*, 2010; GINESTRA *et al.*, 2009; KIM; PARK, 2009; MARTINS, 2011; MENDEZ *et al.*, 2012; SALEEM *et al.*, 2006; SANTOS-ZEA *et al.*, 2011; STINTZING; CARLE, 2005; VALENTE *et al.*, 2010).

Os terpenos ou terpenóides constituem uma classe de metabólitos secundários onde a maioria das substâncias são insolúvel em água. Essas substâncias são derivadas de unidades de isopreno, pentacarbonada (C₅), também chamadas de isoprenóides (TAIZ; ZEIGER, 2013). Dentre as substâncias relatadas em cladódios de palma estão as moléculas (6S,9S)-3-oxo- α -ionol- β -D-glucopiranosídeo, corchoionosídeo-C, Opuntiosídeo-A [(6R)-9,10-dihidroxi-4,7-megastigmadieno-3-one-9-O- β -D-glucopiranosídeo], Opuntiosídeo-B [(6S)-9,10-dihidroxi-4,7-megastigmadieno-3-one-9-O- β -D-glucopiranosídeo], os carotenoides, esteróis e saponinas (LEE *et al.*, 2003; SALEEM *et al.*, 2006).

O conteúdo de carotenoides varia de 0,0013 a 21,32 mg.g⁻¹ MS. Os principais carotenoides identificados são o β -caroteno (36%), α -criptoxantina (20%) e luteína (44%) (BENSADÓN *et al.*, 2010; CORRAL-AGUAYO *et al.*, 2008; RAMÍREZ-MORENO *et al.*, 2013; STINTZING; CARLE, 2005).

A percentagem de esteróis na fração lipídica varia de 4,40 a 5,00% (colesterol), 8,00 a 8,80% (metilcolesterol) e 86,70 a 87,00% (sitoesterol). Além dessas moléculas foram relatadas a presença dos triterpenos, α -amirina, 3- β -acetiltaraxerol, friedelina e lupenona (MARTINS, 2011; STINTZING; CARLE, 2005).

O conteúdo de tocoferol (vitamina E) é 0,08 mg.g⁻¹ MS (CORRAL-AGUAYO *et al.*, 2008).

O conteúdo de vitamina C (ácido ascórbico e dehidroascorbico) varia de 0,57 a 3,08 mg.g⁻¹ MS (CORRAL-AGUAYO *et al.*, 2008; RAMÍREZ-MORENO *et al.*, 2013). O conteúdo das vitaminas B1 (tiamina), riboflavina (B2) e niacina (B3) nos cladódios de palma são respectivamente, 0,02; 0,07 e 0,05 mg.g⁻¹ da MS (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014).

Os compostos nitrogenados não proteicos constituem uma classe de metabólitos secundários, que possuem em sua estrutura o N. Entre as moléculas que já foram identificadas nos cladódios estão as poliaminas (espermina, espermidina e putrecina), as aminas (tiramina, N-metiltiramina, 3-metoxitiramina, e colina), os alcaloides (mescalina, 3,4-dimetoxifenetilamina e ordenina) (STINTZING; CARLE, 2005).

1.2.1.5.2 Acúmulo de metabólitos secundários nos cladódios e adaptação das plantas ao estresse oxidativo

Os radicais livres (RL) são todos os átomos ou moléculas que tem elétrons não pareados em sua camada externa. São substâncias instáveis que se multiplicam em cascatas, têm uma vida extremamente curta e reagem com todo tipo de molécula pelo mecanismo de oxidorredução (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são subprodutos das reações redox (redução-oxidação), que podem se apresentar como radicais livres ou como não radicais moleculares. As (EROs) são formadas a partir da excitação do oxigênio atmosférico (O₂) que resulta na formação de oxigênio singlete (¹O₂) ou pela transferência de um, dois ou três elétrons para O₂ formando, respectivamente, radical superóxido (O₂⁻), radical hidroperoxila (HO₂⁻) ou peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (HO[•]). Essas moléculas são tóxicas, pois, provocam peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, inibição enzimática e danos ao DNA e RNA causando disfunção celular, lesões necróticas e morte da célula (ROSA *et al.*, 2009). Uma vez que as EROs reagem com as moléculas de lipídeos, proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos e carboidratos, causando danos as células (BARBOSA *et al.*, 2014).

As EROs são produzidas normalmente nos processos que dependem do oxigênio, como a fotossíntese, respiração aeróbica e fotorespiração das plantas. No entanto, o déficit hídrico, salinidade, temperatura elevada, alta luminosidade e radiação ultravioleta (UV) as quais as plantas do semiárido estão diariamente expostas, provocam o aumento dessas moléculas que causam o estresse oxidativo. Assim, as plantas desenvolveram mecanismos para se protegerem dos danos que as EROs provocam produzindo moléculas antioxidantes (ROSA *et al.*, 2009; SILVEIRA *et al.*, 2009).

A eliminação de EROs é realizada por moléculas antioxidantes não enzimáticas, como glutathione reduzida (GSH), ascorbato (AsA), flavonoides, cumarinas, alcalóides, ácidos fenólicos, aminoácidos não proteicos, sesquiterpenos, isopreno, tocoferóis, vitaminas (ácido ascórbico), pigmentos carotenoides; e enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD), glutathione redutase (GR), glutathione peroxidase (GPX), peroxirredoxina (PRXR), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR), polifenol oxidase (PPO) (AZEVEDO *et al.*, 2009; BARTWAL *et al.*, 2013; SOARES; MACHADO, 2007).

1.2.1.6 Estresse oxidativo, antioxidantes e doenças em animais e humanos

Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências indica que os radicais livres e outros oxidantes são os grandes responsáveis pelo envelhecimento, e doenças autoimunes, infecciosas, inflamatórias, degenerativas (câncer), cardiovasculares, hepatopatias, cataratas, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais. Ademais, os danos causados no DNA pelos radicais livres, também tem papel importante nos processos mutagênicos e carcinogênicos (GOTTLIEB *et al.*, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Nos animais e seres humanos as EROs (O_2^- , HO_2^- , H_2O_2 , HO^\cdot , NO^\cdot e NO_2^\cdot) são produzidas naturalmente nos processos metabólicos e fisiológico e estão envolvidas com a produção de ATP, fagocitose, regulação do crescimento celular, entre outros processos. Todavia, em determinadas condições, como lesões químicas ou por radiação, toxidez do oxigênio e outros gases, envelhecimento celular, morte microbiana por células fagocíticas, danos inflamatórios, etc., podem ocorrer elevação em sua produção no organismo, levando ao estresse oxidativo (GOTTLIEB *et al.*, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

As EROs causam danos ao organismo por reagirem com substâncias químicas orgânicas e inorgânicas, como proteínas, lipídeos, carboidratos, principalmente com moléculas importantes nas membranas celulares e ácidos nucleicos. Os efeitos são amplos, mas os danos celulares mais relevantes envolvem a peroxidação lipídica das membranas, modificações oxidativas das proteínas, lesões no ácido desoxirribonucleico (DNA) e lesões de reperfusão (GOTTLIEB *et al.*, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

As células tentando se proteger do excesso de EROs e manter o equilíbrio redox, produzem uma variável quantidade de substâncias antioxidantes, a exemplo das enzimas, superóxidos dismutases (citoplasmática e mitocondrial), catalase, glutathione peroxidase e glutathioneredutase; e substâncias não enzimáticas, como a glutathione, ácido lipóico, albumina,

ubiquinona, metalotioneínas, transferrina e ceruloplasmina (GOTTLIEB *et al.*, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Além das substâncias antioxidantes que o próprio organismo produz, os alimentos ingeridos podem também conter moléculas capazes de inibir a oxidação de outras moléculas, a exemplo temos o ácido ascórbico, tocoferol, carotenoides, compostos fenólicos, compostos nitrogenados não proteicos e demais metabólitos secundários vegetais, zinco, cobre, selênio e magnésio, que ajudam na reciclagem e reações de regeneração que otimizam a proteção contra os radicais livres (GOTTLIEB *et al.*, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Assim, o consumo de alimentos que contenham essas moléculas antioxidantes é importante para a manutenção do equilíbrio redox das células e conseqüentemente menor incidência e menor mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis, sobretudo o câncer em seres humanos.

1.2.1.7 Utilização de cladódios de palma na nutrição e prevenção de doenças

Nos últimos anos o consumo de alimentos nutritivos e que possam trazer benefícios à saúde humana e animal estão sendo muito procurados e difundidos pelo mundo. Os cladódios de palma têm sido considerados por muito tempo uma importante fonte de nutrientes para a alimentação humana e animal na América Latina e no mundo. Além do mais, os cladódios possuem propriedades benéficas para a saúde animal e humana e têm sido comprovados os seus efeitos cicatrizantes, antiinflamatórios, antiulcerogênicos e anticâncer, hepatoprotetores, condroprotetores (osteoartrites), hipoglicemiante, diuréticos, antigástricos, antiaterosclerose, prevenção contra diabetes, hipertrofia prostática, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, desordens alérgicas, fragilidade capilar, melhora a agregação plaquetária humana, atua contra infecções de bactérias, fungos e vírus, entre outros benefícios (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014; MARTINS, 2011; SHEDBALKAR *et al.*, 2010).

Os cladódios de palma são muito consumidos no México, Estados Unidos e Japão como hortaliça, seu conteúdo de fibras dietéticas é alto e são maiores que a grande maioria das frutas e hortaliças conhecidas comercialmente. Além disso, são ricos em minerais, principalmente o cálcio, magnésio e potássio, ademais, o conteúdo de sódio é baixo, sendo um alimento benéfico para a saúde humana. Ainda, o conteúdo de carotenoides, ácidos graxos e vitamina (C, B e E) são considerados medianos em comparação a outras hortaliças (NAZARENO, 2013; NEPA-UNICAMP, 2006; PEREIRA; LOPES, 2011; SÁENZ, 2006b).

Por possuir um alto conteúdo de metabólitos secundários (compostos bioativos), a exemplo das fibras, dos hidrocolóides (mucilagem), carotenoides, esteróis, ácidos graxos, minerais (Ca, Mg e K), vitaminas (C, B e E), compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) e compostos nitrogenados não proteicos (alcaloides e poliaminas), os cladódios de palma são considerados alimentos funcionais ou nutracêuticos (NAZARENO, 2013; SÁENZ, 2006b).

A fibra dietética tem relação com a saúde humana por controlar o colesterol e prevenir algumas doenças como diabetes e obesidade. São constituídas por celulose, hemicelulose e lignina, componentes químicos resistentes as enzimas digestivas (SÁENZ, 2006b).

A fibra dietética é classificada em dois grupos de acordo com sua solubilidade em água: solúveis e insolúveis. A primeira é composta pela mucilagem, gomas, pectinas e hemicelulose; e a segunda é composta por celulose, lignina e uma fração de hemicelulose (SÁENZ, 2006b).

As fibras solúveis estão associadas à saúde humana por reduzir os níveis de glicose e colesterol e atuam na estabilização de vazamento gástrico. As fibras insolúveis têm a capacidade de reter água e agem no intercâmbio iônico, absorção de ácidos biliares, minerais, vitaminas e outras interações com a flora microbiana (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014; SÁENZ, 2006b).

Os ácidos graxos principalmente o ácido linoleico é benéfico à saúde por ajudar a prevenir os efeitos hipercolesterolêmicos e por possuir propriedades inibitórias contra células metastáticas de câncer de colo. O ácido linolênico atua prevenindo doenças cardiovasculares, inflamatórias, desordens autoimunes e diabetes (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014).

Os esteróis encontrados nos cladódios e frutas têm ação analgésica e antiinflamatória. O principal esteróide identificado foi o β -sitoesterol (NAZARENO, 2013).

Os polissacarídeos, carotenoides, ácido ascórbico, tocoferol, os compostos fenólicos e os compostos nitrogenados não proteicos, se destacam na saúde humana pela sua atividade antioxidante comprovada, atuando contra o envelhecimento acelerado das células (BARI *et al.*, 2012; BENSADÓN *et al.*, 2010; KUTI *et al.*, 2004; SANTOS-ZEA *et al.*, 2011; VALENTE *et al.*, 2010; ZHONG *et al.*, 2010).

Os flavonoides e compostos fenólicos são metabólitos secundários que têm efeito protetor contra o câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, prevenção de inflamações, desordens alérgicas, fragilidade capilar e agregação plaquetária humana (AHMED *et al.*, 2005; GINESTRA *et al.*, 2009; NECCHI *et al.*, 2011). Os efeitos benéficos dos

compostos fenólicos na saúde humana estão associados à capacidade antioxidante e sequestradora de radicais livres.

1.3 Referências Bibliográficas

ABIDI, S.; SALEM, H.B.; VASTA, V.; PRIOLO, A. Supplementation with barley or spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) cladodes on digestion, growth and intramuscular fatty acid composition in sheep and goats receiving oaten hay. **Small Ruminant Research**, v.87, n.1, p.9-16, 2009.

AHMED, M.S.; TANBOULY, N.D. El.; ISLAM, W.T.; SLEEM, A.A.; SENOUSY, A.S. El. Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. flowers growing in Egypt. **Phytotherapy Research**, v.19, n.9, p.807-809, 2005.

ALBUQUERQUE, S.G.; SANTOS, D.C. Palma forrageira. In: KILL, L.H.P.; MENEZES, E.A. **Espécies Vegetais Exóticas com Potencialidades para o SemiÁrido Brasileiro**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 91-127.

ALVES, F.A.L. **Caracterização da absorção e distribuição de K⁺ e Na⁺ em plântulas de cajueiro sob salinidade**. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

ALVES, F.A.L.; FERREIRA-SILVA, S.L.; LIMA, J.P.M.S.; SILVEIRA, J.A.G. da. Efeitos do KCl e CaCl₂ na absorção e transporte de Na⁺ em cajueiro exposto ao NaCl. **Revista Ciência Agrônômica**, v.39, n.2, p.287-294, 2008.

ANDERSON, E.F. **The cactus Family**. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 2001. 776p.

ANDRADE, A.P.; SOUZA, E.S.; SILVA, D.S.; SILVA, I.F.; LIMA, J.R. S. Produção animal no bioma caatinga: Paradigmas dos “pulsos-reservas”. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35 (suplemento especial), p.138-155, 2006.

AZEVEDO, R.A.; ARRUDA, M.A.Z.; GRATÃO, P.L.;CAPALDI, F.R. Oxidative stress induced by metals – new approaches. In: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.;

BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 10, p. 79-81.

BARBERA, G. História e importância econômica e agroecológica. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. 1. ed. Italia/Roma: Food Agriculture Organization of the United Nations/Brazilian Support Service to Micro and Small Enterprises of Paraíba, 2001. cap. 1, p. 1-11.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M. de. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BARI, M.N.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K.; RASOOL, N.; BUKHARI, I.H.; AKRAM, S.; BOKHARI, T.H.; SHAHID, M.; HAMEED, M. AHMAD, V.U. Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, n.4, v.34, p.990-995, 2012.

BARTWAL, A.; MALL, R.; LOHANI, P.; GURU, S. K.; ARORA, S. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, n.1, p.216-232, 2013.

BATISTA, A.M.; MUSTAFA, A.F.; MCALLISTER, T.; WANG, Y.; SOITA, H.; MCKINNON, J.J. Effects of variety on chemical composition, *in situ* nutrient disappearance and *in vitro* gas production of spineless cacti. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, n.5, p.440-445, 2003.

BENSADÓN, S.; HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; SÁYAGO-AYERDI, S.; GOÑI, I. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. **Plant Foods Human Nutrition**, v.65, p.210-216, 2010.

BRAVO-HOLLIS, H. **Las Cactáceas de México**. Ciudad Universitaria: Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, 1978. p.755.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 7 ed. Rockville: American Society of Plant Biologists, 2009. 1367 p.

CARNEIRO, G.G.; SILVA, E. de. O.; ORESCA, D. Potencial fitoterápico das espécies nativas das caatingas. In: RIBEIRO, W.S.; CARNEIRO, G.G.; ORESCA, D.; GOIS, G.C.; SILVA, E. de. O. **Potencial de uso forrageiro, alimentício, medicinal e ornamental das espécies nativas das Caatingas**. Brasília: Editora Kiron, 2013. cap.4, p.73-83.

CARREIRA, V.P.; PADRÓ, J.; KOCH, N.M.; FONTANARROSA, P.; ALONSO, I.; SOTO, I.M. Nutritional composition of *Opuntia sulphurea* G. don cladodes. **Haseltonia**, v.19, p.38-45, 2014.

CASTILLO, F.; HERNÁNDEZ, D.; GALLEGOS, G.; MENDEZ, M.; RODRÍGUEZ, R.; REYES, A.; AGUILAR, C.N. *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. **Industrial Crops and Products**, v.32, n.3, p.324-328, 2010.

CHAHDOURA, H.; MORALES, P.; BARREIRA, J.C.M.; BARROS, L.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; FERREIRA, I.C.F.R.; ACHOUR, L. Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff and *Opuntia macrorhiza* (Engelm.). **Food Science and Technology**, v.64, n.1, p.446-451, 2015.

CHIACCHIO, F.P.B.; MESQUITA, A.S.; SANTOS, J.R. Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o semi-árido baiano. **Bahia Agrícola**, v.7, n.3, p.39-49, 2006.

CIRILO, J.A.; MONTENEGRO, S.M.G.L.; CAMPOS, J.N.B. A questão da água no semiárido brasileiro. In: BICUDO, C.E. de. M.; TUNDISI, J.G.; SCHEUENSTUHL, M.C.B. (Ed.). **Águas do Brasil: Análises estratégicas**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2010. p. 81-91.

CONY, M.A.; TRIONE, S.O.; GUEVARA, J.C. Macrophysiological responses of two forage *Opuntia* species to salt stress. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v.8, p.52-62, 2006.

CORRAL-AGUAYO, R.D.; YAHIA, E.M.; CARRILLO-LOPEZ, A.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.10498-10504, 2008.

CUNHA, A.R.B. de. A. Práticas alternativas para a convivência com o semiárido: O beneficiamento da palma. In: WORKSHOP SOBRE A PALMA FORRAGEIRA: USOS E PERSPECTIVAS PARA O SEMIÁRIDO, 1., 2012, Feira de Santana. **Anais**. Feira de Santana: UEFS, 2012. p.19.

DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B.; ARAÚJO-FILHO, J.T.; SANTOS, M.V.F. dos.; LIRA, M. de. A.; SANTOS, D.C. dos.; PESSOA, R.A.S. Adubação mineral no crescimento e composição mineral da palma forrageira – Clone IPA-20. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.1, p.129-135, 2010.

DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F. dos.; CAVALCANTE, M.; SANTOS, D.C. dos. Potencial da palma forrageira na América do Sul. **Cactusnet Newsletter**, v.13, ed. esp., p.29-40, 2013.

DUQUE, J.G. **Perspectivas Nordestinas**. 2 ed. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2004. p.424.

EL-MOSTAFA, K.; EL-KHARRASSI, Y.; BADREDDINE, A.; ANDREOLETTI, P.; VAMECQ, J.; EL-KEBBAJ, M.S.; LATRUFFE, N.; LIZARD, G.; NASSER, B.; CHERKAOUI-MALKI, M. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. **Molecules**, v.19, n.9, p.14879-14901, 2014.

FARIAS, I.; SANTOS, D.C.; DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B. Estabelecimento e manejo da palma forrageira. In: MENEZES, R.S.C.; SIMÕES, D.A.; SAMPAIO, E.V.S.B. **A palma no nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Ed. Universitária da UFRPE, 2005. p.105-128.

FERNANDES, P.D.; ANDRADE, A.P. de.; FERNANDES, M.G.; CORREIA, K.G. Potencial de plantas da Caatinga. In: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 13, p. 96-105.

FRANCO-SALAZAR, V.; VÉLIZ, J.A. Respuestas de la tuna [*Opuntia ficus-indica* (L.)] al NaCl. **Interciencia**, v.32, n.2, p.125-130, 2007.

GALLEGOS-INFANTE, J.A.; ROCHA-GUZMAN, N.E.; GONZÁLEZ-LAREDO, R.F.; REYNOSO-CAMACHO, R.; MEDINA-TORRES, L.; CERVANTES-CARDOZO, V. Effect of air flow rate on the polyphenols content and antioxidant capacity of convective dried cactus pear cladodes (*Opuntia ficus indica*). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.60, suplemento 2, p.80-87, 2009.

GOIS, C.G.; ORESCA, D.; CARNEIRO, G.G. Espécies forrageiras ou com potencial forrageiro. In: RIBEIRO, W.S.; CARNEIRO, G.G.; ORESCA, D.; GOIS, G.C.; SILVA, E. de. **O. Potencial de uso forrageiro, alimentício, medicinal e ornamental das espécies nativas das Caatingas**. Brasília: Editora Kiron, 2013. cap.2, p.29-41.

GOIS, G.C.; SILVA, F.C. dos. S.; RIBEIRO, W.S. Descrição morfológica, origem, domesticação, dispersão da palma forrageira e sua introdução no Brasil. In: RIBEIRO, W.S.; SILVA, F.C. dos. S.; COSTA, E.R. da.; SILVA, S. de. M.; ECULICA, G.C. **A palma e sua importância no nordeste brasileiro**. Brasília: Editora Kiron, 2013. cap.1, p.9-19.

GOMES, J. B. **Adubação orgânica na produção de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.) no cariri paraibano**. 2011. 50 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2011.

GOTTLIEB, M.G.V.; MORASSUTTI, A.L.; CRUZ, I.B.M. da. Transição epidemiológica, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis sob uma perspectiva evolutiva. **Scientia Medica**, v.21, n.2, p.69-80, 2011.

GRIFFITH, M.P. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. **American Journal Botany**, v.91, n.11, p.1915-1921, 2004.

GUEDES, C.C. **Culinária com broto de palma**. João Pessoa: Universitária, 2002. 53p.

GUEVARA-FIGUEROA, T.; JIMÉNEZ-ISLAS, H.; REYES-ESCOGIDO, M.; MORTENSEN, A.G.; LAURSEN, B.B.; LIN, L-W.; LEÓN-RODRÍGUEZ, A. de.; FOMSGAARD, I.S.; ROSA, A.P.B. de L. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.525-532, 2010.

GURJÃO, F.F.; COSTA, E.R. da.; GOIS, G.C. Principais usos tradicionais, atuais e potenciais da palma. In: RIBEIRO, W.S.; SILVA, F.C. dos. S.; COSTA, E.R. da.; SILVA, S. de. M.; ECULICA, G.C. **A palma e sua importância no nordeste brasileiro**. Brasília: Editora Kiron, 2013. cap.3, p.27-43.

GINESTRA, G.; PARKER, M.; BENNETT, R.N.; ROBERTSON, J. MANDALARI, G.; NARBAD, A.; CURTO, R.B.L.; BISIGNANO, G.; FAULDS, C.B.; WALDRON, K.W. Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.21, p.10323-10330, 2009.

HILLS, F.S. Anatomia e Morfologia. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. 1. ed. Italia/Roma: Food Agriculture Organization of the United Nations/Brazilian Support Service to Micro and Small Enterprises of Paraíba, 2001. cap. 4, p. 28-35.

IBGE – Censo Demográfico, Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 09 novembro de 2015a.

IBGE – Pesquisa Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura, Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 09 novembro de 2015b.

IBGE – Pesquisa Agrícola Municipal, Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 09 novembro de 2015c.

IBGE – Pesquisa Pecuária Municipal, Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 09 novembro de 2015d.

KIM, H.; PARK, S.H. Metabolic profiling and discrimination of two cacti cultivated in Korea using HPLC-ESI-MS and multivariate statistical analysis. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v.52, n.4, p.346-352, 2009.

KUTI, J.O. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. **Food Chemistry**, v.85, n.4, p.527-533, 2004.

LEE, E.H.; KIM, H.J.; SONG, Y.S.; JIN, C.; LEE, K-T.; CHO, J.; LEE, Y.S. Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. **Archives of Pharmacal Research**, v.26, n.12, p.1018-1023, 2003.

LEITE, M.L. de.M.V. **Avaliação de clones de palma forrageira submetidos a adubações e sistematização de informações em propriedades do semiárido paraibano**. 2009. 186 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2009.

LIMA, G.F.C.; SILVA, J.G.M.; NOBRE, F.V.; BARRETO, H.F.M. **Produção estratégica de alimentos para a pecuária familiar no semiárido: Alternativas para a formulação de rações na própria fazenda**. Natal: EMPARN. 2009. 54p.

LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, I.; CAMPAS-BAYPOLI, O.N.; BUENO-SOLANO, C. Functional properties and proximate composition of cactus pear cladodes flours. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.3, p.654-659, 2011.

MARTINS, S.C. da. C. **Avaliação do potencial biológico de *Opuntia ficus-indica* (Figueira da Índia)**. 2011. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2011.

MENDEZ, M.; RODRÍGUEZ, R.; RUIZ, J.; MORALES-ADAME, D.; CASTILLO, F.; HERNÁNDEZ-CASTILLO, F.D.; AGUILAR, C.N. Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. **Industrial Crops and Products**, v.37, p.445-450, 2012.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL-MIN. **Nova delimitação do Semi-Árido Brasileiro**. Brasília, DF, 32p., 2005.

MONDRAGÓN-JACOBO, C.; PÉREZ-GONZÁLEZ, S. **Cactus (*Opuntia* spp.) as forage**. Plant Production and Protection Paper da FAO, 169. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2001. 146p.

MOURA, M.S.B. de.; GALVINCIO, J.D.; BRITO, L.T. de. L.; SOUZA, L.S.B. de.; SÁ, I.I.S.; SILVA, T.G.F. da. Clima e água de chuva no Semi-Árido. In: BRITO, L.T. de. L.; MOURA, M.S.B. de.; GAMA, G.F.B. (Ed.). **Potencialidades da água de chuva no Semi-Árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007. p. 37-59.

NASCIMENTO, J.P. do. **Caracterização morfológica e estimativa da produção de *Opuntia ficus-indica*, Mill. Sob diferentes arranjos populacionais e doses de fósforo no semi-árido da Paraíba, Brasil**. 2008. 47f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2008.

NAZARENO, M. A. Cactus como fuente de sustancias promotoras de la salud. **Cactusnet Newsletter**, v.13, ed. esp., p.95-105, 2013.

NEFZAOU, A.; SALEM, H.B. *Opuntia* – A strategic fodder and eficiente tool to combat desertification in the Wana region. In: MONDRAGÓN-JACOBO, C.; PÉREZ, GONZÁLEZ,

S. **Cactus (*Opuntia* spp.) as forage**. 1. ed. Roma/Itália: Food Agriculture Organization of the United Nations, 2001. cap. 10, p. 73-89.

NEPA-UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2.ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p.

NOBEL, P.S. Biologia ambiental. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. 1. ed. Roma/Itália: Food Agriculture Organization of the United Nations/Brazilian Support Service to Micro and Small Enterprises of Paraíba, 2001. cap. 5, p. 36-48.

NOBEL, P.S.; BOBICH, E.G. Environmental Biology. In: NOBEL, P.S. (ed.) **Cacti, biology and uses**. Los Angeles: Ed. University of California Press, 2002. p.57-74.

NOBEL, P.S.; ZUTTA, B.R. Temperature tolerances for stems and roots of two cultivated cacti, *Nopalea cochenillifera* and *Opuntia robusta*: Acclimation, light, and drought. **Journal of Arid Environments**, v.72, n.5, p.633-642, 2008.

NOGUEIRA, N.W.; FREITAS, R.M.O. de.; SARMENTO, J.D.A.; LEAL, C.C.P.; CASTRO, M. de. P. Alternativas alimentares para ovinos e caprinos no Semiárido brasileiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.2, p.5-12, 2010.

NOY-MEIR, I. Desert ecosystems: environment and producers. **Annual Reviews Ecology and Systematics**, v.4, p. 25–41, 1973

NECCHI, R.M.M.; MAKI, T.D.T.; DO-CANTO, G.S.; MORESCO, R.N.; DALMORA, S.L.; MANFRON, M. Antiinflammatory activity and biochemical parameters of the ethanol extract of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v.30, n.4, p.786-789, 2011.

NERD, A.; KARADI, A.; MIZRAHI, Y. Salt tolerance of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*). **Plant and Soil**, v.137, n.2, p.201-207, 1991.

OLIVEIRA, F.T.; SILVA, J.S.; SILVA, R.P.; ANDRADE-FILHO, F.C.; PEREIRA-JUNIOR, E.B. Palma forrageira: Adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.4, p.27-37, 2010.

OLIVEIRA, J. de. **Avaliação genética de clones de duas espécies de Palma (*Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm – Dyck) para fins forrageiros**. 2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2011.

ORESCA, D.; CARNEIRO, G.G.; GOIS, G.C. Espécies utilizadas ou com potencial de utilização na alimentação humana. In: RIBEIRO, W.S.; CARNEIRO, G.G.; ORESCA, D.; GOIS, G.C.; SILVA, E. de. O. **Potencial de uso forrageiro, alimentício, medicinal e ornamental das espécies nativas das Caatingas**. Brasília: Editora Kiron, 2013. cap.3, p.43-72.

PEREIRA, E.F.P.; LOPES, P.S. de. Q. **Palma – Ouro verde do Semiárido**. 1.ed. João Pessoa: SENAR-PB, 2011. 73 p.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M. das. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n.4, p.146-152, 2012.

PEREIRA, V.L.A.; SANTOS, D.C. dos.; SILVA, M. da. C.; ALVES, F.A.L.; MESQUITA, F.L.T. de.; COSTA, A.F. da. Diversidade genética de acessos de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* por características comportamentais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PALMA E OUTRAS CACTÁCEAS, 4., 2015, Salvador. **Anais**. Salvador: AGROPEC, 2015. p.312-314.

PIMIENGA, E. **El nopal tunero**. Guadalajara: Universidad de Guadalajara, 1990. 246p.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.6, n.11, p.1720–1731, 2011.

RAMÍREZ-MORENO, E.; CÓRDOBA-DÍAZ, D.; SÁNCHEZ-MATA, M. de. C.; DÍEZ-MARQUÉS, C.; GOÑI, I. Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus indica*). **LWT - Food Science and Technology**, v.51, n.1, p.296-302, 2013.

RIBEIRO, E.M. de. O.; SILVA, N.H. da.; LIMA-FILHO, J.L. de.; BRITO, J.Z. de.; SILVA, M. da. P.C.da. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.30, v.4, p.933-939, 2010.

RODZIEWICZ, P.; SWARCEWICZ, B.; CHMIELEWSKA, K.; WOJAKOWSKA, A.; STOBIECKI, M. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.1, p.1-19, 2014.

ROSA, S.B.; CAVERZAN, A. RIBEIRO, C.; LAZZAROTTO, F.; PASSAIA, G.; SILVEIRA, J.A.G.; FERREIRA-SILVA, S.; FERREIRA, M.A.; MARGIS, R.; MARGIS-PINHEIRO, M. Interação entre estresse oxidativo e estresse abióticos: o papel do sistema antioxidante na regulação das respostas de defesa. *In*: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 09, p. 71-78.

SÁENZ, C. Los nopales como recursos natural. *In*: SÁENZ, C.; BERGER, H.; GARCÍA, J.C.; GALLETI, L.; CORTÁZAR, V.G. de.; HIGUERA, I.; MONDRAGÓN, C.; RODRÍGUEZ-FELIX, A.; SEPÚLVERA, E.; VARNERO, M.T. **Utilización agroindustrial del nopal**. 1. ed. Roma/Itália: Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2006a. cap. 1, p. 1-6.

SÁENZ, C. Características y composición química de los nopales. *In*: SÁENZ, C.; BERGER, H.; GARCÍA, J.C.; GALLETI, L.; CORTÁZAR, V.G. de.; HIGUERA, I.; MONDRAGÓN, C.; RODRÍGUEZ-FELIX, A.; SEPÚLVERA, E.; VARNERO, M.T. **Utilización agroindustrial del nopal**. 1. ed. Roma/Itália: Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2006b. cap. 2, p. 7-22.

SALEEM, M.; KIM, H.J.; HAN, C.K.; JIN, C.; LEE, Y.S. Secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. **Phytochemistry**, v.67, n.13, p.1390-1394, 2006.

SANTOS, D.C.; SANTOS, M.V.F.; FARIAS, I.; DIAS, F.M.; LIRA, M. de. A. Desempenho produtivo de vacas 5/8 holando/zebu alimentadas com diferentes cultivares de palma forrageira (*Opuntia e Nopalea*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.12-17, 2001.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; ARRUDA, G.P.; COELHO, R.S.B.; DIAS, F.M.; MELO, J.N. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia e Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: IPA, 2006. 48p. (IPA. Documento, 30).

SANTOS-ZEA, L.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDIVAR, S.O. Comparative analyses of total phenols, antioxidant activity, and flavonol glycoside profile of cladode flours from different varieties of *Opuntia* spp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.7054-7061, 2011.

SAMPAIO, E.V.S.B. Fisiologia da palma. In: RÔMULO, S.C.; MENEZES, S.; DIOGO, A.S.; EVERARD, V.S.B. (Ed.). **A palma no Nordeste do Brasil – conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Editora Universitária da UFRPE, 2005. p.105-128.

SCHEINVAR, L. Taxonomia das *Opuntias* utilizadas. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. 1. ed. Italia/Roma: Food Agriculture Organization of the United Nations/Brazilian Support Service to Micro and Small Enterprises of Paraíba, 2001. cap. 3, p. 20-27.

SCHEINVAR, L. Usos e importância das Cactáceas. In: WORKSHOP SOBRE A PALMA FORRAGEIRA: USOS E PERSPECTIVAS PARA O SEMIÁRIDO, 1., 2012, Feira de Santana. **Anais**. Feira de Santana: UEFS, 2012. p.151-198.

SHEDBALKAR, U.U.; ADKI, V.S.; JADHAV, J.P.; BAPAT, V.A. *Opuntia* and other cacti: applications and biotechnological insights. **Tropical Plant Biology**, v.3, n.3, p.136-150, 2010.

SILVA, J.A. da.; BONOMO, P.; DONATO, S.L.R.; PIRES, A.J.V.; ROSA, R.C.C.; DONATO, P.E.R. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e adubações química. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, suplemento, p.866-875, 2012.

SILVEIRA, J.A.G.; FERREIRA-SILVA, S.L.; FONTENELE, A. de. V.; SILVA, E.N. Mecanismos de proteção oxidativa sob condições de estresses abióticos combinados em espécies do semiárido. *In*: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 11, p. 82-88.

SIMÕES, D.A.; SANTOS, D.C.; DIAS, F.M. Introdução da palma forrageira no Brasil. *In*: MENEZES, R.S.C.; SIMÕES, D.A.; SAMPAIO, E.V.S.B. **A palma no Nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2005. p.13-26.

SOARES, A.M. dos. S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.1, p.9-19, 2007.

STINTZING, F.C.; CARLE, R. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.49, n.2, p.175-194, 2005.

SUDZUKI, F.; MUÑOZ, C.Y.; BERGER, H. 1993. **El cultivo de la tuna (Cactus Pear)**. Santiago de Chile: Universidad de Chile. 1993. p.88.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

VALENTE, L.M.M.; PAIXÃO, D. da.; NASCIMENTO, A.C. do.; SANTOS, P.F.P. dos.; SCHEINVAR, L.A.; MOURA, M.R.L.; TINOCO, L.W.; GOMES, L.N.F.; SILVA, F.M. da. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). **Food Chemistry**, v.123, n.4, p.1127-1131, 2010.

VIANA, G.S.B.; LEAL, L.K.A.M.; VASCONCELOS, S.M.M. **Plantas medicinais da Caatinga: Atividades biológicas e potencial terapêutico.** Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, 2013. 492p.

ZHONG, X-K.; JIN, X.; LAI, F-Y.; LIN, Q-S.; JIANG, J-G. Chemical analysis and antioxidant activities in vitro of polysaccharide extracted from *Opuntia ficus indica* Mill. cultivated in China. **Carbohydrate Polymers**, v.82, p.722-727, 2010.

ZÚÑIGA-TARANGO, R.; VÁZQUEZ-ALVARADO, R.; SALAZAR-SOSA, E. Patrón de desarrollo radical de nopal em diferentes condiciones de suelo y su relación com el rendimiento. In: AGUIRRE-RIVERA, J.R.; REYES-AGUERO, J.A (eds). **Conocimiento y aprovechamiento del nopal.** VIII Congreso Nacional Y Congreso Internacional. Universidad Autónoma de San Luís Potosí, San Luís Potosí, México, p.12-13, 1999.

CAPÍTULO II

Estudo da variabilidade genética, correlação e importância de características fenotípicas em palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*)

Estudo da variabilidade genética, correlação e importância de características fenotípicas em palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*)

Resumo – A palma forrageira é uma planta muito cultivada no Nordeste do Brasil contribuindo, significativamente, para a alimentação dos rebanhos, principalmente em períodos de seca. Por apresentar alta variação fenotípicas entre as variedades cultivadas nessa região é imprescindível o estudo da diversidade genética. Assim, os objetivos do trabalho foram caracterizar a diversidade genética em sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* através de 19 características morfológicas e comportamentais, e determinar a correlação fenotípica e importância dessas características na variabilidade entre os genótipos, utilizando técnicas de análise multivariadas. O estudo foi conduzido na estação experimental do IPA, em Arcoverde-PE, utilizando delineamento em bloco ao acaso, com três repetições. Os materiais IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205 e IPA-200149 foram avaliados quanto a 19 características quantitativas das plantas. Os dados coletados foram analisados pela análise de variância pelo teste F, e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). A herdabilidade no sentido amplo e correlação fenotípica das características foram estimadas. A diversidade genética foi estimada por métodos multivariados. As análises de variância e diversidade genética revelaram diferenças significativas entre os genótipos, sendo possível a formação de dois, três ou quatro grupos geneticamente distintos. Os valores de herdabilidade variaram de 79,59 - 97,02%. O teor de água e massa fresca do cladódio são as características que mais contribuíram para a divergência genética entre os materiais. Além disso, essas características são correlacionadas, positiva e significativamente, com massa seca, largura, comprimento e área do cladódio. Assim, fica confirmado a variabilidade genética entre as variedades estudadas de palma e o potencial uso delas em programas de melhoramento. As técnicas de análise multivariadas são eficientes no estudo da diversidade genética nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*.

Termos para indexação: análise multivariada, agrupamento, caracterização de forrageiras, distância genética, semiárido brasileiro

Study of genetic variability, correlation and importance of phenotypic characteristics in cactus pear (*Opuntia* and *Nopalea*)

Abstract – The cactus pear is a plant much cultivated in northeastern Brazil contributing, significantly, to the alimentation of herds, mainly in dry periods. Due to high phenotypic variation between varieties cultivated in this region is essential the study of genetic diversity. Like this, the objectives of this study were to characterize the genetic diversity in seven varieties of cactus pear of the *Opuntia* and *Nopalea* genres through 19 morphological and behavioral characteristics, and determine the phenotypic correlation and importance of these characteristics in the variability between genotypes, using techniques multivariate analysis. The study was conducted at the experimental station of IPA, in Arcoverde-PE, using design block at random, with three replications. The materials IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205 and IPA-200149 were evaluated for 19 quantitative traits of plants. The collected data were analyzed by analysis of variance by F test and the averages grouped by the Scott-Knott test ($p < 0.05$). The heritability in the broad sense and phenotypic correlation of the characteristics were estimated. The genetic diversity was estimated by multivariate methods. The analyses of variance and genetic diversity revealed significant differences between genotypes, with the possible formation of two, three or four genetically distinct groups. The heritability values ranged from 79.59 to 97.02%. The water content and fresh mass of cladode are the characteristics that most contributed to the genetic divergence between the materials. Furthermore, these traits are correlated, positive and significantly with dry mass, width, length and area of the cladode. Thus, it is confirmed the genetic variability among the varieties studied of cactus pear and the potential use of them in breeding programs. The techniques of analysis multivariate are effective in the study of genetic diversity in the genus *Opuntia* and *Nopalea*.

Index terms: brazilian semiarid, characterization of forage, clustering, genetic distance, multivariate analysis

2.1 Introdução

A palma (*Opuntia* spp. e *Nopalea* spp.) é uma cactácea originária do México, país que as exploram desde o período pré-hispânico, detendo a maior diversidade genética e uma das maiores áreas cultivadas do mundo com mais de 28,3 milhões de hectares. A distribuição atual dessas plantas no mundo inclui ambientes distintos e uma ampla faixa de espécies, o que deve a alta variação genética, que se origina da grande diversidade ecológica das áreas de onde são nativas (BARRIOS; MUÑOZ-URÍAS, 2001; LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2001).

Essas plantas são utilizadas para diversos fins, alimentação humana, alimentação animal, produção de energia, medicina, cosméticos, indústria química e alimentícia. É difícil encontrar uma planta tão distribuída e explorada, principalmente nas zonas áridas e semiáridas, ou como economia de subsistência pelos produtores de pequenos animais, ou como cultura voltada para o mercado industrial (BARBERA *et al.*, 2001).

Por suas características fisiológicas, morfológicas e químicas que conferem a essas plantas tolerar ambientes áridos e semiáridos, principalmente no que se refere à absorção, aproveitamento e uso da água, elas se adaptaram muito bem no Nordeste do Brasil. Essa região é caracterizada por apresentar alto índice de evaporação anual, superior a 2.000 mm, e média anual de chuvas inferior a 750 mm, concentrada em um único período de 3 a 5 meses, além disso, em alguns anos a estiagem é prolongada, resultando no fenômeno das secas (ARAÚJO *et al.*, 2005).

As espécies *Opuntia ficus indica* Mill. e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck. são amplamente cultivadas, principalmente nos estados de Pernambuco, Alagoas, Paraíba, Sergipe, Bahia e Ceará. Estima-se que a área cultivada no Brasil alcance cerca de 550.000 ha. O principal uso dessas plantas nessa região é como base de sustentação alimentar dos ruminantes, notadamente na estação seca, tendo em vista que esse segmento é fortemente atingido pela insuficiência de forrageiras nesse período (SANTOS *et al.*, 2006).

A maioria dos trabalhos envolvendo seleção e melhoramento de palma forrageira utiliza métodos estatísticos do tipo univariado, uma vez que estão voltados para a análise da variação em uma única variável aleatória. No entanto, a seleção de plantas baseadas em várias variáveis importantes pode ser mais vantajosa que aquela baseada em apenas uma variável, principalmente quando efetuada em um conjunto de características quantitativas (FERREIRA *et al.*, 2003).

No manuseio simultâneo de várias características, as técnicas multivariadas consideram, simultaneamente, um conjunto de variáveis aleatórias entre si, onde cada uma possui o mesmo

grau de importância. Basicamente, as técnicas multivariadas para estudos de diversidade são aplicadas a partir de medidas de dissimilaridade entre os genótipos, como exemplo a distância generalizada de Mahalanobis. Além disso, a análise de agrupamento reúne indivíduos com características similares em relação às variáveis observadas. Dentre os métodos destacam-se o da otimização de Tocher; os hierárquicos, como o método da ligação média não ponderada (UPGMA), e análise de componentes principais e variáveis canônicas (CRUZ *et al.*, 2012).

Assim, os objetivos do trabalho foram caracterizar a diversidade genética em sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* através de 19 características morfológicas e comportamentais, e determinar a correlação fenotípica e importância dessas características na variabilidade entre genótipos, utilizando técnicas de análise multivariadas.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Local do experimento

O trabalho foi realizado na Estação Experimental de Arcoverde, pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado no município de Arcoverde-PE (8°25' S; 37°05' W), altitude 680,70 m, temperatura média anual $22,90 \pm 1,68$ °C, Umidade Relativa do ar média anual $69,60 \pm 5,30\%$, velocidade do vento (média anual $3,92 \pm 0,48$ m s⁻¹), evaporação acumulada (média 1700,40 mm), precipitação acumulada média anual de 798,1 mm, microrregião do sertão do Moxotó (INMET, 2015).

2.2.2 Material vegetal e condução do experimento

Os materiais utilizados estão listados na Tabela 2.1. Os cladódios dos clones foram plantados nos dias 22 e 23 de abril de 2010, espaçados 1,0 x 0,5 m; utilizando-se um cladódio por cova. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com três repetições. Cada bloco foi composto por três fileiras plantadas com oito plantas de cada variedade. A parcela experimental foi composta pela fileira do meio, sendo úteis seis plantas, 3,0 m² de área útil. O solo foi adubado 30 dias após o plantio, com 20 t.ha⁻¹ de esterco bovino, distribuídos entre as linhas. Periodicamente, foram realizados tratamentos culturais, na forma de capina com enxada, em toda a área cultivada.

As medições e a coleta dos materiais foram realizadas, às 8:00 horas da manhã no dia 19 de fevereiro de 2013 (período seco). Após as medições, o material foi limpo, cortado em pequenos pedaços (2 a 3 cm de comprimento) e secos em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, onde permaneceu por 72 horas, até peso constante, onde se obteve a massa seca (MS).

Tabela 2.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil

Nº	Variedades	Espécie	Nome vulgar
1	IPA-100003	<i>Opuntia ficus indica</i>	IPA-20
2	IPA-200016	<i>Opuntia stricta</i>	Orelha de Elefante Mexicana
3	IPA-200008	<i>Opuntia atropes</i>	F-08
4	IPA-100004	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Miúda
5	IPA-200021	<i>Nopalea cochenillifera</i>	F-21
6	IPA-200205	<i>Nopalea cochenillifera</i>	IPA-Sertânia
7	IPA-200149	<i>Opuntia larreri</i>	-

2.2.3 Determinação de características morfológicas e produção

Foram determinados a largura (LC), comprimento (CC), espessura (EC), área do cladódio (AC), massa fresca (MFC), seca (MSC) e teor de água dos cladódios (H₂O); número de cladódios totais (NC), largura (LP), altura (AP), área fotossintética total (AFT), índice de área do cladódio (IAC), produção de massa fresca (PV) e seca (PS) das plantas.

A LC, CC, EC, LP, AP foram medidos como auxílio de um paquímetro e fita métrica; A MFC e MSC, com pesagem em balança de precisão (0,01 g); O H₂O foi determinado pela subtração entre MFC e MSC; AC foi estimada, conforme descrito por Sales *et al.* (2013), através da seguinte fórmula: $AC = CC \times LC \times 0,632$; A AFT foi estimada pela multiplicação AC pelo NC; O índice de área do cladódio (IAC) foi estimado de acordo com Sales *et al.* (2013), pela relação entre AFT e a área do solo ocupada pela planta; O PV e PS foi estimado pelo NC multiplicado pela MFC e MSC.

2.2.4 Determinação de características comportamentais

A área útil (três fileiras/genótipos) foi avaliada visualmente pelas características de Desejabilidade (DESEJ) – aspecto geral do genótipo, onde se considera brotação, aspecto produtivo e fitossanitário; Infestação por cochonilha do Carmim (*Dactylopius opuntiae*) (CAR), Infestação por cochonilha de Escama (*Diaspis echinocacti*) (ESC), Incidência de Doenças (DOE) e Índice de Murcha (MUR).

Utilizou-se para DESEJ, nota 1 (alta), nota 2 (média), nota 3 (baixa). Para CAR, ESC, DOE e MUR, nota 0 (ausência), nota 1 (baixa), nota 2 (média), nota 3 (alta) e nota 4 (altíssima) (PEREIRA *et al.*, 2014).

2.2.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados inicialmente pela análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974), em nível de 5% de probabilidade.

A herdabilidade no sentido amplo foi calculada pelo estimador: $h^2 = \sigma_g^2 / \sigma_p^2 \times 100$; onde: σ_g^2 = variância genética e σ_p^2 = variância fenotípica. A variância genética foi calculada pelo estimador $\sigma_g^2 = \text{MSTreat} - \text{MSRes} / J$; onde: MSTreat = média do quadrado do tratamento; MSRes = média do quadrado do resíduo e J = número de repetições (RÊGO *et al.*, 2011).

A diversidade genética entre as variedades foi estimada utilizando a medida de dissimilaridades expressa pela distância de Mahalanobis (D^2), segundo Cruz *et al.* (2012). Realizou-se o agrupamento pelo método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), método de Otimização de Tocher (RAO, 1952), método de Análise de Componentes Principais e Variáveis Canônicas (CRUZ *et al.*, 2012).

A importância relativa dos caracteres em relação à diversidade genética foi estudada segundo Singh (1981), análise de variáveis canônicas e componentes principais (CRUZ *et al.*, 2012). As correlações entre as características foram obtidas como descrito por Rêgo *et al.* (2011), testaram a probabilidade de 1 e 5% pelo teste t.

As análises dos dados foram realizadas com o auxílio do programa estatístico GENES®-Aplicativo Computacional em Genética e Estatística (CRUZ, 2001) e Assistat® 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2006).

2.3 Resultados e Discussão

A análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,01$) revelaram diferenças significativas para largura (LC), comprimento (CC), área (AC), massa seca (MSC) do cladódio; número de cladódios (NC), infestação por (*D. opuntiae*) (CAR), infestação por (*D. echinocacti*) (ESC), murcha (MUR) das plantas e a ($p \leq 0,05$) para área fotossintética total (AFT), índice de área do cladódio (IAC) e peso seco (PS) das plantas, o que confirma haver variabilidade fenotípica entre as variedades de palma forrageira para a maioria das características estudadas. Não foram detectadas diferenças significativas entre espessura (EC), massa fresca (MFC), teor de água (H_2O) do cladódio, largura (LP), altura (AP), peso verde (PV), desejabilidade (DESEJ) e incidência de doenças (DOE) nas plantas (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Análise de variância e estimativas do coeficiente de variação ambiental (CVe), da razão entre os coeficientes de variação genético (CVg) e ambiental (CVe), da herdabilidade no sentido amplo (h^2) das características morfológicas e comportamentais de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Quadrados médios												
F.V	G.L	LC	CC	EC	AC	MFC	MSC	H ₂ O	NC	LP	AP	AFT
Bloco	2	16,10	44,08	0,02	18493,82	41172,76	1082,57	28904,64	346,30	280,61	228,00	35062515,45
Variedades	6	71,47**	66,54**	0,07ns	42112,81**	47023,10ns	2014,03**	30611,97ns	1609,96**	773,35ns	222,41ns	16513675,79*
Resíduos	12	2,13	2,96	0,04	1456,89	20190,56	411,08	15291,76	80,30	288,31	149,39	5385859,75
CVe (%)	-	9,99	6,67	32,92	15,17	75,92	41,66	89,29	23,30	19,38	18,93	29,52
CVg/CVe	-	3,30	2,67	0,54	3,05	0,67	1,14	0,58	2,52	0,75	0,40	0,83
h^2 (%)	-	97,02	95,55	46,77	96,54	57,06	79,59	50,05	95,01	62,72	32,83	67,39
Quadrados médios												
F.V	G.L	IAC	PV	PS	DESEJ	CAR	ESC	DOE	MUR			
Bloco	2	1,40	26736681,39	1067008,28	0,33	0,05	0,00	0,90	0,76			
Variedades	6	0,66*	14134953,97ns	836550,51*	0,22ns	1,19**	1,97**	0,38ns	0,75**			
Resíduos	12	0,22	7906517,59	266899,74	0,22	0,05	0,11	0,40	0,15			
CVe (%)	-	29,52	52,93	35,24	0,00	91,65	58,33	0,00	18,53			
CVg/CVe	-	0,83	0,5124	0,84	0,00	2,83	2,36	0,00	1,15			
h^2 (%)	-	67,39	44,06	68,10	0,00	96,00	94,35	0,00	79,79			

LC largura do cladódio, CC comprimento do cladódio, EC espessura do cladódio, AC área do cladódio, MFC massa fresca do cladódio, MSC massa seca do cladódio, H₂O teor de água do cladódio, NC número de cladódios totais, LP largura da planta, AP altura da planta, AFT área fotossintética total da planta, IAC índice de área do cladódio, PV produção de massa fresca da planta, PS produção de massa seca da planta, DESEJ Desejabilidade, CAR Infestação por cochonilha do Carmim (*Dactylopius opuntiae*), ESC Infestação por cochonilha de Escama (*Diaspis echinocacti*), IC Incidência de Doenças e MUR Índice de Murcha
 ns não significativo, *significativo a 5%, ** significativo a 1% pelo teste F

Ferreira *et al.* (2003) e Neder *et al.* (2013), estudando a diversidade genética em palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill.), relatam diferenças significativas entre 38 acessos estudados por eles, em relação a EC, CC, LC, NC, PV, PS, AP e LP. A não detecção de diferenças entre as características, EC, MFC, H₂O, LP, AP, PV e DESEJ entre as variedades de palma forrageira, provavelmente, esteja relacionada a época de obtenção dos dados, período seco, logo após, um grande déficit hídrico sofrido pelas plantas, o que pode ter prejudicado os resultados das determinações, já que as plantas não estavam em seu pleno turgor, e essas características são influenciadas pelo acúmulo de água nos tecidos. A diferença fenotípica entre as variedades no período chuvoso é nítida. Além disso, existe diferença entre as variedades em relação ao acúmulo e retenção de água nas duas estações de coleta do material, seca e chuvosa (ALVES *et al.* 2013). Ademais, essas características estão positivamente correlacionadas com o teor de água do cladódio (Tabela 2.8).

Os genótipos estudados apresentaram variação média na LC (8,50 a 22,33 cm), CC (19,90 a 32,33 cm), EC (0,36 a 0,76 cm), AC (107,40 a 434,90 cm²), MFC (59,46 a 401,66 g), MSC (20,20 a 81,06 g), H₂O (39,26 a 320,60 g), NC (12,16 a 79,83 unidades), LP (65,66 a 114,11 cm), AP (52,33 a 80,33 cm), AFT (2.949,90 a 9.898,06 cm²), IAC (0,59 a 1,97), PV (2.164,58 a 8.356,25 g), PS (611,55 a 2.293,86 g), DESEJ (2,33 a 3,00 nota), CAR (0,00 a 1,66 nota), ESC (0,00 a 2,00 nota), DOE (1,00 a 2,00 nota) e MUR (1,66 a 3,00 nota) (Tabela 2.3).

Paixão (2012), Amorim (2011) e Ferreira *et al.* (2003), estudando 51 genótipos de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, relatam variação média entre eles na AP (54,00 a 226,70 cm), LP (72,12 a 238,10 cm), EC (1,83 a 4,02 cm), NC (5,66 a 221,30 unidades), CC (24,36 a 48,47 cm), LC (12,05 a 28,45 cm), AC (118,47 a 320,49 cm²), AFT (1.563,92 a 8.907,74 cm²), MFC (205,85 a 1.525,00 g), MSC (16,41 a 54,33 g), H₂O (189,44 a 803,31 g), IAC (0,32 a 1,36), PV (3.635,03 a 24.070,00 g) e PS (233,89 a 843,41 g). Os pesquisadores referem essa variação à variabilidade genotípica, idade da planta e fatores ambientais. Esses valores estão de acordo com os encontrados neste trabalho para o gênero *Opuntia* e *Nopalea*.

Os valores de EC, abaixo da média, confirmam a influência do ambiente, principalmente o conteúdo de água do solo, no crescimento e turgor das plantas. Já que essa característica está associada ao estado de turgidez do cladódio (AMORIM, 2011). De fato, o déficit hídrico sofrido pelas plantas no período de obtenção dos dados subestimou os resultados, já que sob estresse hídrico os cladódios não estavam turgidos, além do mais, alguns genótipos perderam alguns cladódios e esses não puderam ser contabilizados nas determinações. Além disso, Sales *et al.* (2003) relata que as oscilações climáticas, solo, manejo, tratamentos culturais e acúmulo de água

influenciam na expressão das características das plantas, afetando desse modo a produção. No entanto, como o trabalho estudou a diversidade genética entre as variedades e como elas estavam no mesmo ambiente, expostas ao déficit hídrico, os resultados não podem ser desprezados.

A razão entre o coeficiente de variação genético (CVg) e ambiental (CVe), ficou acima de um para as características LC, CC, AC, MSC, NC, CAR, ESC, MUR, com valores de herdabilidade (h^2) entre 79,59 - 97,02%. Indicando alto controle genético entre essas características. Para as outras características EC, MFC, H₂O, LP, AP, AFT, IAC, PV, PS, DESEJ e DOE a (CVg)/(CVe) os índices foram inferiores a um, indicando o domínio do ambiente nessas características (Tabela 2.2).

Neder *et al.* (2013) relatam que LC, CC, EC, LP, AP, PV e PS são controlados por fatores genéticos e que NC é controlado por fatores ambientais. No entanto, como os pesquisadores relataram que as correlações genótípicas entre esses caracteres foram maiores que as fenotípicas e ambientais, mas não significativas, isso pode indicar o efeito do ambiente na associação com as características genéticas (GONÇALVES *et al.*, 1996).

Paixão (2012), estudando componentes de variância e parâmetros genéticos para as variáveis AP, LP, NC, LC e CC em progênies de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* relatam que a variância ambiental é superior a genotípica para essas características, indicando que a variabilidade existente era viesada, e que poderia estar superestimando a variância genética. Em geral, a variância causada pelo ambiente é uma importante fonte de erro, capaz de reduzir a precisão experimental (FALCONER, 1987; PAIXÃO, 2012). No entanto, aqueles mesmos pesquisadores relatam, que as estimativas dos coeficientes de herdabilidade, no sentido amplo, foram de alta magnitude para AP, LC e CC, evidenciando o bom controle genético e a possibilidade de avanços genéticos (PAIXÃO, 2012).

Constatada a existência de variabilidade genética entre os genótipos, procedeu-se ao estudo da divergência genética entre os materiais. Para as características, em que a análise de variância foi significativa, foram identificadas diferenças ($p \leq 0,05$), por meio do teste de Scott-Knott, sendo observada a formação de dois (CC, MSC, AFT, IAC, CAR e MUR), três (AC e NC) e quatro (LC e ESC) grupos de médias (Tabela 2.3).

Tabela 2.3. Média das características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Caracteres	Variedades						
	1	2	3	4	5	6	7
LC	18,16 b	22,33 a	11,06 c	8,50 d	11,10 c	13,60 c	17,33 b
CC	32,33 a	30,50 a	21,90 b	19,90 b	25,00 b	28,40 a	22,50 b
EC	0,70 a	0,60 a	0,50 a	0,43 a	0,36 a	0,76 a	0,70 a
AC	372,56 a	434,90 a	153,46 c	107,40 c	176,76 c	248,46 b	250,80 b
MFC	268,33 a	401,66 a	88,33 a	59,46 a	71,66 a	232,23 a	188,33 a
MSC	65,06 a	81,06 a	25,60 b	20,20 b	21,90 b	73,8 a	53,00 a
H ₂ O	203,26 a	320,60 a	62,73 a	39,26 a	49,76 a	158,43 a	135,33 a
NC	24,66 c	21,66 c	46,83 b	79,83 a	53,16 b	30,83 c	12,16 c
LP	114,11 a	87,66 a	84,00 a	90,00 a	72,88 a	98,89 a	65,66 a
AP	80,33 a	68,66 a	52,33 a	61,33 a	63,66 a	65,33 a	60,33 a
AFT	9157,06 a	9356,16 a	7292,75 a	8579,86 a	9898,06 a	7799,16 a	2949,90 b
IAC	1,83 a	1,87 a	1,45 a	1,71 a	1,97 a	1,55 a	0,59 b
PV	6680,00 a	8356,25 a	4279,48 a	4753,83 a	3776,93 a	7180,35 a	2164,58 a
PS	1628,35 a	1718,91 a	1235,51 a	1611,43 a	1160,95 a	2293,86 a	611,55 a
DESEJ	2,33 a	2,66 a	2,66 a	2,66 a	3,00 a	2,33 a	3,00 a
CAR	1,66 a	0,00 b					
ESC	0,00 d	2,00 a	0,66 c	0,00 d	0,00 d	1,33 b	0,00 d
DOE	1,33 a	1,00 a	1,66 a	1,00 a	2,00 a	1,33 a	1,33 a
MUR	1,66 b	1,66 b	2,33 a	2,33 a	3,00 a	1,66 b	2,00 b

LC largura do cladódio (cm), CC comprimento do cladódio (cm), EC espessura do cladódio (cm), AC área do cladódio (cm²), MFC massa fresca do cladódio (g), MSC massa seca do cladódio (g), H₂O teor de água do cladódio (g), NC número de cladódios totais, LP largura da planta (cm), AP altura da planta (cm), AFT área fotossintética total da planta (cm²), IAC índice de área do cladódio, PV produção de massa fresca da planta (g), PS produção de massa seca da planta (g), DESEJ Desejabilidade, CAR Infestação por cochonilha do Carmim (*Dactylopius opuntiae*), ESC Infestação por cochonilha de Escama (*Diaspis echinocacti*), IC Incidência de Doenças e MUR Índice de Murcha

*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, (p<0,05)

O método de agrupamento de Tocher reuniu as sete variedades em dois grupos distintos. O grupo I foi representado pelos genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6. O grupo II foi constituído pelo genótipo 7 (Tabela 2.4).

Tabela 2.4. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características morfológicas e comportamentais, a distância generalizada de Mahalanobis e o método de otimização de Tocher

Grupo	Variedades
I	1, 3, 5, 4, 6, 2
II	7

De acordo com o dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA, as variedades de palma foram reunidas em três grupos, considerando-se o corte de 38% da distância genética relativa, conforme o critério mencionado por Arriel *et al.* (2006) e Cruz *et al.* (2012), no qual os pontos de alta mudança de nível são considerados delimitadores

do número de genótipos para determinado grupo. O grupo I foi composto pelos genótipos 1, 3, 4, 5 e 6; o grupo II pelo 2; e grupo III pelo 7 (Figura 2.1).

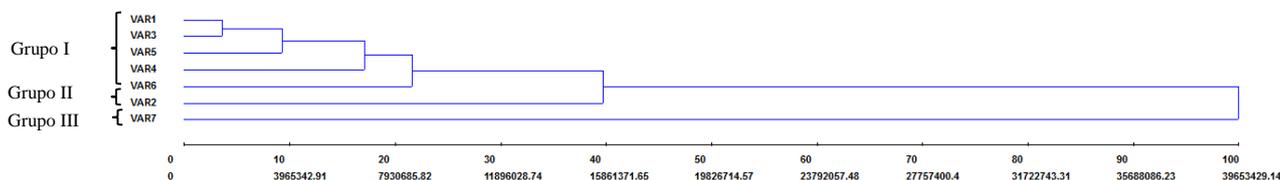


Figura 2.1. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características morfológicas e comportamentais

A análise dos componentes principais demonstrou que a utilização das três primeiras variáveis foi suficiente para explicar quase 85% da variação total obtida nos sete genótipos avaliados (Tabela 2.5). Assim, uma descrição razoável da divergência genética dos genótipos poderá ser feita por essas componentes, visto que segundo Cruz *et al.* (2012) é necessário que as primeiras componentes principais exceda 80% do valor acumulado para explicar a variabilidade manifestada entre os indivíduos, levando a interpretação do fenômeno com considerável simplificação dos caracteres. Ao analisar o gráfico de dispersões dos escores da análise de componentes principais observa-se a formação de quatro grupos. Os genótipos ficaram divididos no grupo I (3, 4 e 5), grupo II (1 e 6), grupo III (2) e grupo IV (7) (Figura 2.2).

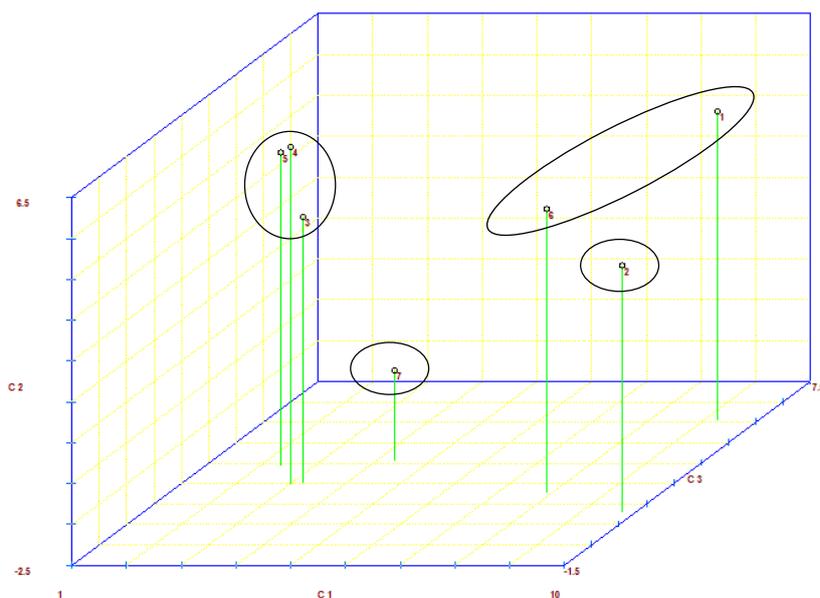


Figura 2.2. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base seis características morfológicas e comportamentais

Na análise das variáveis canônicas as duas primeiras variáveis explicaram (96,75%) da variação total entre as variedades de palma, possibilitando boa confiabilidade da variabilidade entre os genótipos no plano bi-dimensional (Tabela 2.6). Ao se analisar o gráfico de dispersões dos escores das variáveis canônicas observa-se a formação de três grupos. O grupo I representado pelos genótipos 1, 3, 4, 5 e 6, o grupo II pelo 2 e o grupo III pelo genótipo 7 (Figura 2.3).

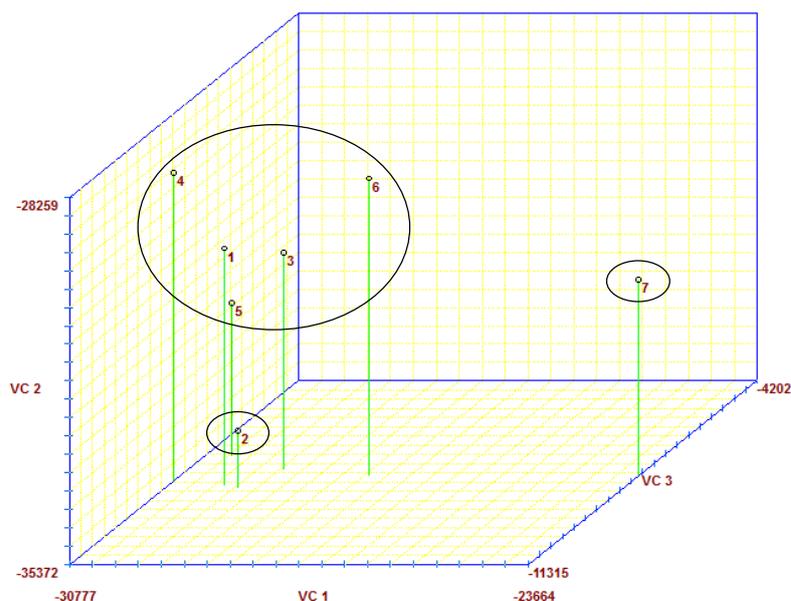


Figura 2.3. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, em relação a primeira, segunda e terceira variável canônica (VC1, VC2 e VC3) tendo como base seis características morfológicas e comportamentais

Os métodos de agrupamento dos genótipos foram similares entre si. No entanto, a ordem de agrupamento dos genótipos entre os grupos foi diferente. Por exemplo, nos métodos UPGMA, componentes principais e variáveis canônicas o genótipo (2) foi classificado em um único grupo, divergindo do método de Tocher que classificou esse genótipo similar aos genótipos (1, 3, 4, 5 e 6). Já o método de componentes principais classificou os genótipos (1 e 6) em grupos diferente, divergindo dos outros métodos que classificaram os genótipos (1, 3, 4, 5 e 6) similares (Figura 2.1, 2.2, 2.3 e Tabela 2.4).

A análise de agrupamento (cluster analysis) identifica grupos de indivíduos similares após a estimação de uma matriz de dissimilaridade. Há vários métodos de agrupamento que se diferenciam pelo tipo de resultado e pelas diferentes formas de definir a proximidade entre indivíduos ou grupos formados. Em todos os casos, não se conhece a priori, o número de grupos a ser estabelecido e diferentes métodos proporcionam diferentes resultados (CRUZ *et al.*, 2012).

Os métodos de agrupamento baseiam-se principalmente em métodos hierárquicos e de otimização. Nos hierárquicos, destaca-se o método da distância média entre grupos (UPGMA), onde os agrupamentos são identificados na forma de dendrogramas, dispostos em vários níveis e não leva em conta o número ótimo de grupos. Nos de otimização, destaca-se o algoritmo de Tocher, onde o objetivo é alcançar uma partição dos indivíduos que otimize (maximize ou

minimize) alguma medida predefinida. Baseia-se na formação de grupos em que as distâncias dentro dos grupos sejam menores que as distâncias entre grupos, obtendo-se o número ótimo de grupos (CRUZ *et al.*, 2012).

As técnicas de análise de componentes principais e variáveis canônicas visa à redução na dimensionalidade das variáveis de forma que a nova combinação de variáveis lineares não correlacionadas resultante explique a estrutura de variância e covariância do conjunto de variáveis originais (CRUZ *et al.*, 2012).

O uso de técnicas multivariadas na detecção da diversidade genética exige certo grau de estruturação nos dados. É importante que critérios diferentes de agrupamento sejam utilizados e que se considere como correta a estrutura consenso da maior parte deles, para que seja assegurado que o resultado obtido não seja um artefato da técnica utilizada (ARRIEL *et al.*, 2006; VIANA, 2013).

A formação de dois grupos de palma pelo método de Tocher, três pelos métodos UPGMA e variáveis canônicas e quatro grupos pelo método de componentes principais, fornecem informações relevantes para a conservação de material genético como fonte para programas de melhoramento. Segundo Silva *et al.* (2011), os cruzamentos entre genótipos de grupos distintos fornecem linhagens superiores para o melhoramento de características de interesse. A obtenção de linhagens, a partir de variedades comerciais, é uma alternativa viável, pois representam genótipos já melhorados e testados em vários ambientes de cultivo. Considerando híbridos, ainda é possível contar com elevada proporção de locos distintos fixados, facilitando a seleção e recombinação de alelos favoráveis (AMORIM; SOUZA, 2005).

Assim, como sugestão para o programa de melhoramento com o gênero *Opuntia* e *Nopalea*, o melhorista deve considerar não somente a distância entre grupos como critério para orientar os cruzamentos, mas também o desempenho individual do genótipo para cada característica de interesse agrônomo e zootécnico (FERREIRA *et al.*, 2003). Além da possibilidade e facilidade de obter cruzamentos entre indivíduos de diferentes gêneros (PAIXÃO, 2012).

Na análise dos componentes principais, as características que mais contribuíram para a variância total na primeira componente foram MFC, MSC, H₂O e AC. Na segunda componente destacaram-se AFT, IAC e NC. Na terceira componente sobressairam-se CAR e AP (Tabela 2.5). Já na análise das variáveis canônicas, as características que mais contribuíram para a variância total na primeira variável foram ESC e CAR, e na segunda variável destacaram-se DESEJ e MUR (Tabela 2.6). As características de maior importância são aquelas cujas

coeficientes de ponderação (autovetores) são de maior magnitude, em valor absoluto, nos primeiros componentes principais ou variáveis canônicas (CRUZ *et al.*, 2012). Essas, portanto seriam as características mais responsivas nos processos seletivos entre populações de palma.

Tabela 2.5. Estimativa dos autovalores associados aos componentes principais e importância relativa (autovetores) referente a 19 características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Componentes	Raiz (autovalor)	Raiz %	% Acumulada	Importância relativa (autovetores)										
				MFC	MSC	H ₂ O	EC	LC	CC	AC	NC	AFT	IAC	LP
1	10,05	52,87	52,87	0,30	0,30	0,29	0,23	0,25	0,28	0,29	-0,20	0,07	0,07	0,21
2	4,06	21,38	74,26	-0,11	-0,13	-0,11	-0,22	-0,23	0,07	-0,10	0,34	0,44	0,44	0,29
3	2,03	10,71	84,96	-0,10	-0,07	-0,11	0,11	0,01	0,14	0,04	-0,11	-0,06	-0,06	0,20
4	1,81	9,50	94,46	0,14	-0,01	0,17	-0,32	0,25	0,21	0,25	-0,12	0,28	0,28	-0,26
5	0,82	4,31	98,77	-0,08	0,11	-0,14	0,27	-0,14	0,21	-0,09	-0,29	-0,03	-0,03	0,01
6	0,23	1,23	100,00	-0,02	0,28	-0,10	0,24	-0,15	0,13	-0,10	0,056	-0,001	-0,001	-0,26

Componentes	Raiz (autovalor)	Raiz %	% Acumulada	Importância relativa (autovetores)							
				AP	PV	PS	MUR	DOE	CAR	DESEJ	ESC
1	10,05	52,87	52,87	0,23	0,26	0,18	-0,27	-0,16	0,15	-0,21	0,19
2	4,06	21,38	74,26	0,12	0,21	0,30	0,11	0,04	0,11	-0,23	-0,007
3	2,03	10,71	84,96	0,35	-0,21	-0,22	0,02	0,20	0,57	-0,06	-0,52
4	1,81	9,50	94,46	0,12	0,006	-0,24	0,30	0,32	-0,01	0,38	0,06
5	0,82	4,31	98,77	-0,19	0,007	0,20	0,073	0,74	-0,09	-0,19	0,20
6	0,23	1,23	100,00	0,53	-0,07	0,37	0,15	-0,09	-0,34	0,26	-0,25

MFC massa fresca do cladódio (g), *MSC* massa seca do cladódio (g), *H₂O* teor de água do cladódio (g), *EC* espessura do cladódio (cm), *LC* largura do cladódio (cm), *CC* comprimento do cladódio (cm), *AC* área do cladódio (cm²), *NC* número de cladódios totais, *AFT* área fotossintética total da planta (cm²), *IAC* índice de área do cladódio, *LP* largura da planta (cm), *AP* altura da planta (cm), *PV* produção de massa fresca da planta (g), *PS* produção de massa seca da planta (g), *MUR* Índice de Murcha, *DOE* Incidência de Doenças, *CAR* Infestação por cochonilha do Carmim (*Dactylopius opuntiae*), *DESEJ* Desejabilidade e *ESC* Infestação por cochonilha de Escama (*Diaspis echinocacti*)

Tabela 2.6. Estimativa dos autovalores associados a variáveis canônicas e importância relativa (autovetores) referente a 19 características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Variável canônica	Raiz (autovalor)	Raiz %	Acumulada %	Importância relativa (autovetores)									
				MFC	MSC	H ₂ O	EC	LC	CC	AC	NC	AFT	IAC
1	5950441,88635	65,76975	65,76975	0,00005	0,00027	0,0	0,00039	0,00069	-0,0006	-0,00223	-0,00299	0,00043	-0,00009
2	2803191,65355	30,98345	96,75320	-0,00027	0,00009	0,0	0,00084	-0,0022	-0,0002	0,00154	0,00309	-0,0008	0,0
3	172614,96673	1,90789	98,66110	-0,00148	-0,0015	0,0	0,00074	-0,0068	-0,0007	0,00131	0,00603	0,00051	0,00007
4	120244,63357	1,32905	99,9901	0,0006	0,00135	0,0	0,00098	0,00485	0,00399	-0,00211	-0,01036	0,00329	-0,00014
5	886,82921	0,00980	99,99996	0,0099	0,02711	0,0	0,00552	0,00003	0,01874	-0,00932	-0,4237	0,03919	-0,00011
6	3,19831	0,00003	100,0000	0,12444	0,36019	0,00001	-0,0743	0,20859	0,40727	0,02923	-0,2794	0,16108	0,00692

Variável canônica	Raiz (autovalor)	Raiz %	Acumulada %	Importância relativa (autovetores)								
				LP	AP	PV	PS	MUR	DOE	CAR	DESEJ	ESC
1	5950441,88635	65,76975	65,76975	0,00502	0,00072	0,00303	0,00285	-0,3576	-0,3529	0,58204	0,07891	0,6344
2	2803191,65355	30,98345	96,75320	0,00582	-0,0008	-0,0042	-0,0015	0,31095	0,29452	0,05789	0,88437	0,17614
3	172614,96673	1,90789	98,66110	0,00474	-0,0039	-0,0072	0,00092	0,25413	0,70908	0,11707	-0,4296	0,48388
4	120244,63357	1,32905	99,9901	-0,0099	0,00595	0,01342	-0,0054	0,12349	0,17886	0,79893	-0,4384	-0,5586
5	886,82921	0,00980	99,99996	-0,02294	-0,0354	0,0601	-0,0846	0,82691	-0,4990	0,07197	-0,1570	0,14183
6	3,19831	0,00003	100,0000	-0,05287	0,601	0,38999	-0,1260	-0,0397	0,03136	-0,0169	0,00784	0,00594

MFC massa fresca do cladódio (g), MSC massa seca do cladódio (g), H₂O teor de água do cladódio (g), EC espessura do cladódio (cm), LC largura do cladódio (cm), CC comprimento do cladódio (cm), AC área do cladódio (cm²), NC número de cladódios totais, AFT área fotossintética total da planta (cm²), IAC índice de área do cladódio, LP largura da planta (cm), AP altura da planta (cm), PV produção de massa fresca da planta (g), PS produção de massa seca da planta (g), MUR Índice de Murcha, DOE Incidência de Doenças, CAR Infestação por cochonilha do Carmim (*Dactylopius opuntiae*), DESEJ Desejabilidade e ESC Infestação por cochonilha de Escama (*Diaspis echinocacti*)

Na análise da contribuição relativa das características para a diversidade genética entre as sete variedades de palma por meio da metodologia de Singh (1981), o H₂O contribuiu com 43,29%, e a MFC com 39,63% para a variabilidade entre os genótipos. Essas duas características contribuíram com 82,92% da variabilidade total entre os materiais. As características que menos contribuíram para a divergência foram EC, DESEJ, ESC e DOE (Tabela 2.7). As variáveis de menor contribuição são pouco informativas na caracterização da variabilidade genética existente, e podem ser descartadas em estudos de divergência genética (RÊGO *et al.*, 2011).

Tabela 2.7. Contribuição relativa de 19 características morfológicas e comportamentais para a diversidade genética das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, por meio da metodologia de Singh (1981)

Características	Contribuição relativa (%)
LC	2,69
CC	2,86
EC	0,01
AC	0,13
MFC	39,63
MSC	0,89
H ₂ O	43,29
NC	0,23
LP	0,15
AP	0,23
AFT	2,66
IAC	0,37
PV	5,51
PS	0,83
DESEJ	0,02
CAR	0,26
ESC	0,04
DOE	0,05
MUR	0,12

LC largura do cladódio (cm), CC comprimento do cladódio (cm), EC espessura do cladódio (cm), AC área do cladódio (cm²), MFC massa fresca do cladódio (g), MSC massa seca do cladódio (g), H₂O teor de água do cladódio (g), NC número de cladódios totais, LP largura da planta (cm), AP altura da planta (cm), AFT área fotossintética total da planta (cm²), IAC índice de área do cladódio, PV produção de massa fresca da planta (g), PS produção de massa seca da planta (g), DESEJ Desejabilidade, CAR Infestação por cochonilha do Carmim (*Dactylopius opuntiae*), ESC Infestação por cochonilha de Escama (*Diaspis echinocacti*), DOE Incidência de Doenças e MUR Índice de Murcha

Paixão (2012) e Ferreira *et al.* (2003) citam como características mais importantes para a divergência nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, LC, CC, EC, NC e MFC. Apesar deste trabalho apresentar MFC e H₂O, como as principais características de diversidade, essas características estão correlacionadas positivamente e significativamente na ($p \leq 0,01$) entre si, e com MSC, LC, AC, e na ($p \leq 0,05$) com CC. Estes resultados indicam a grande importância das características

morfológicas relacionadas aos cladódios para o estudo da diversidade genética na palma forrageira (Tabela 2.8).

A MSC foi correlacionada positivamente e significativamente com H₂O, AC, EC, LC, CC. A LC foi correlacionada positivamente com AC. O CC foi correlacionada positivamente com AC, AP e PV. A AFT foi correlacionada positivamente com IAC. A LP foi correlacionada positivamente com DESEJ. A AP foi correlacionada positivamente com CAR. O PV foi correlacionado positivamente com PS e ESC. O PS foi correlacionado positivamente com DESEJ. O NC foi negativamente correlacionado com MSC, EC, LC e AC. A MUR foi negativamente correlacionada com MSC, EC, MFC e H₂O (Tabela 2.8).

A maioria das características morfológicas dos cladódios avaliadas nesse estudo está correlacionada positivamente e significativamente entre si. Isso é esperado, pois tratam-se de características relacionadas a produção agrônômica. Correlações positivas entre as características morfoagronômicas (NC, EC, CC, LC, AP, LP, PV e PS) também foram relatadas por Neder *et al.* (2013), estudando 19 acessos de palma forrageira (*Opuntia ficus indica*) aos 30 meses de idade. Com exceção do NC que foi correlacionado negativamente com EC e LC, corroborando com os resultados de nosso trabalho.

As correlações positivas da AP e PV com CAR e ESC, respectivamente, se dá pela maior área de contato dessas pragas com a planta.

Um aspecto importante a ser considerado é em relação a AC do genótipo, quanto maior a área, maior o H₂O e mais resistente é a planta ao déficit hídrico e a MUR. Característica essa de interesse para o programa de melhoramento da palma visando a seleção de genótipos mais tolerantes ao déficit hídrico. Além disso, a AC foi correlacionada positivamente com o MFC e MSC, características agrônômicas relevantes para a produção de forragem para a alimentação e nutrição animal.

Embora, a priori, deva ser preferido a seleção de genótipos com maior produção de MSC, devido a variação no teor de água prejudicar os cálculos nutricionais. A seleção por MFC ou AC poderá ser utilizada, uma vez que, essas características estão correlacionadas positivamente e significativamente entre si e não seria necessário a determinação de MSC (NEDER *et al.*, 2013). Conforme Cruz *et al.* (2012), a existência de correlações significativas entre características, indica a viabilidade da seleção indireta para obtenção de ganhos na característica de maior importância.

A MFC e AC são características de grande importância no que compete a aspectos técnicos e econômicos de uma propriedade rural. Por ser de fácil visualização e aferição de

produção no semiárido brasileiro é utilizada como base de cálculo para dimensionamento do número e do fluxo de animais nas propriedades rurais (AMORIM, 2011).

Os genótipos que obtiveram as maiores médias para as características de produção, retenção de água, e resistência a pragas e doenças foram 2 e 6 (Tabela 2.3). Assim cruzamentos envolvendo esses genótipos poderiam gerar progênes superiores em características de interesse agrônômicos, zootécnicos ou fisiológicos.

Assim, os resultados sugerem perspectivas de trabalhos futuros com o objetivo de explorar a variabilidade encontrada entre os genótipos de palma estudados e a possibilidade de utilização de outras metodologias como a de marcadores moleculares de proteínas, características fisiológicas, bioquímicas e químicas, e, também, a variação cromossômica para a determinação da variabilidade genética; proporcionando desta forma uma análise complementar aos estudos realizados por meio de características morfológicas e comportamentais.

Tabela 2.8. Correlações entre as características morfológicas e comportamentais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Características	MFC	MSC	H ₂ O	EC	LC	CC	AC	NC	AFT	IAC	LP	AP	PV	PS	MUR	DOE	CAR	DESEJ	ESC	
MFC	1	0,94 **	0,99 **	0,64 ns	0,93 **	0,81 *	0,96 **	-0,74 ns	0,08 ns	0,08 ns	0,36 ns	0,60 Ns	0,73 ns	0,36 ns	-0,81 *	-0,51 ns	0,28 ns	0,39 ns	0,71 ns	
MSC		1	0,91 **	0,83 *	0,84 *	0,80 **	0,88 **	-0,78 *	-0,04 ns	-0,04 ns	0,41 ns	0,59 Ns	0,69 ns	0,45 ns	-0,88 **	-0,48 ns	0,27 ns	0,50 ns	0,66 ns	
H ₂ O			1	0,59 ns	0,94 **	0,80 *	0,96 **	-0,71 ns	0,11 ns	0,11 ns	0,34 ns	0,59 Ns	0,72 ns	0,33 ns	-0,78 *	-0,51 ns	0,28 ns	0,35 ns	0,70 ns	
EC				1	0,59 ns	0,54 ns	0,58 ns	-0,78 *	-0,42 ns	-0,42 ns	0,39 ns	0,41 Ns	0,34 ns	0,28 ns	-0,87 **	-0,39 ns	0,34 ns	0,53 ns	0,31 ns	
LC					1	0,72 ns	0,96 **	-0,85 *	-0,09 ns	-0,09 ns	-0,15 ns	0,56 Ns	0,47 ns	0,02 ns	-0,69 ns	-0,38 ns	0,32 ns	0,13 ns	0,51 ns	
CC						1	0,87 **	-0,59 ns	0,42 ns	0,42 ns	0,63 ns	0,84 *	0,76 *	0,50 ns	-0,61 ns	-0,14 ns	0,61 ns	0,57 ns	0,46 ns	
AC							1	-0,76 *	0,14 ns	0,14 ns	0,37 ns	0,71 Ns	0,65 ns	0,23 ns	-0,71 ns	-0,37 ns	0,45 ns	0,33 ns	0,54 ns	
NC								1	0,43 ns	0,43 ns	-0,01 ns	-0,35 Ns	-0,18 ns	0,12 ns	0,63 ns	0,08 ns	-0,26 ns	-0,08 ns	-0,34 ns	
AFT									1	1,00 **	0,51 ns	0,41 Ns	0,61 ns	0,58 ns	0,16 ns	0,08 ns	0,24 ns	0,35 ns	0,22 ns	
IAC											1	0,51 ns	0,41 Ns	0,61 ns	0,58 ns	0,16 ns	0,08 ns	0,24 ns	0,35 ns	0,22 ns
LP												1	0,68 Ns	0,72 ns	0,74 ns	-0,57 ns	-0,34 ns	0,72 ns	0,94 **	0,16 ns
AP													1	0,57 ns	0,38 ns	-0,50 ns	-0,26 ns	0,80 *	0,51 ns	0,04 ns
PV														1	0,85 *	-0,64 ns	-0,47 ns	0,27 ns	0,74 ns	0,75 *
PS															1	-0,47 ns	-0,36 ns	0,13 ns	0,83 *	0,56 ns
MUR																1	0,69 ns	-0,37 ns	-0,68 ns	-0,52 ns
DOE																	1	-0,05 ns	-0,38 ns	-0,38 ns
CAR																		1	0,54 ns	-0,30 ns
DESEJ																			1	-0,32 ns
ESC																				1

* e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t
ns: não significativo

2.4 Conclusões

As variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* apresentam divergência genética. Os métodos multivariados utilizados para a divergência agrupam os genótipos em dois, três ou quatro grupos.

As características que mais contribuem para a diversidade genética são o teor de água e massa fresca dos cladódios. Essas características são correlacionadas positivamente e significativamente com massa seca, largura, comprimento e área do cladódio.

As técnicas de análise multivariadas são eficientes no estudo da diversidade genética de espécies dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*.

2.5 Referências

ALVES, F.A.L.; SANTOS, D.C. dos.; PEREIRA, V.L.A.; SILVA, M. da. C.; FRANÇA, L.T.V.; AMORIM, P.M.D. de. Estimativa de produção de massa fresca, seca e acúmulo de água em palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. In: Congresso Nordestino de Produção Animal, 8., 2013, Fortaleza. **Anais**. Fortaleza: Universidade Estadual Vale do Acaraú, 2013. CD ROM.

AMORIM, E.P.; SOUZA, J.C. Híbridos de milho inter e intrapopulacionais obtidos a partir de populações S0 de híbridos simples. **Bragantia**, v.64, n.4, p.561-567, 2005.

AMORIM, P.L. de. **Caracterização morfológica e produtiva em variedades de palma forrageira**. 2011. 54 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo.

ARAÚJO, L.F.; OLIVEIRA, L.S.C.; PERAZZO-NETO, A.; ALSINA, O.L.S.; SILVA, F.L.H. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: Relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.3, p.379-384, 2005.

ARRIEL, N.H.C.; DI-MAURO, A.O.; DI-MAURO, S.M.Z.; BAKKE, O.A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; CAPELOTO, A.; CORRADO, A.R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.801-809, 2006.

BARBERA, G. História e importância econômica e agroecológica. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. 1. ed. Italia/Roma: Food Agriculture Organization of the United Nations/Brazilian Support Service to Micro and Small Enterprises of Paraíba, 2001. cap. 1, p. 1-11.

BARRIOS, E.P.; MUÑOZ-URIAS, A. Domesticação das *Opuntias* e variedades cultivadas. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E.P. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. 1. ed. Italia/Roma: Food Agriculture Organization of the United Nations/Brazilian Support Service to Micro and Small Enterprises of Paraíba, 2001. cap. 7, p. 58-64.

CRUZ, C.D. **Programa GENES: Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. Ed. Viçosa: UFV, 2012. 514p.

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**. 1. Ed. Viçosa: UFV, 1987. 279p.

FERREIRA, C.A.; FERREIRA, R.L.C.; SANTOS, D.C. dos.; SANTOS, M.V.F. dos.; SILVA, J.A.A da.; LIRA, M. de. A.; MOLICA, S.G. Utilização de Técnicas Multivariadas na Avaliação da Divergência Genética entre Clones de Palma Forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1560-1568, 2003.

GONÇALVES, P.S.; MARTINS, A.L.M.; BORTOLLETO, N.; TANZIZI, M.R. Estimates of genetic parameters and correlations of juvenile characters based on open-pollinated progenies of *Hevea*. **Brazilian Journal of Genetics**, v.19, n.1, p.105-111, 1996.

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. 2015. Dados climáticos da Estação de Arcoverde: série histórica de 1961 a 2014. Banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>> Acesso em: 24 agosto de 2015.

LÓPEZ-GARCÍA, J.J.; FUENTES-RODRÍGUEZ, J.M.; RODRÍGUEZ, R.A. Production and use of *Opuntia* as forage in Northern Mexico. In: MONDRAGÓN-JACOBO, C.; PÉREZ-

GONZÁLEZ, S. **Cactus (*Opuntia spp.*) as forage**. 1. ed. Italia/Roma: Food Agriculture Organization of the United Nations, 2001. cap. 5, p. 29-36.

NEDER, D.G.; COSTA, F.R. da.; EDVAN, R.L.; SOUTO-FILHO, L.T. Correlations and path analysis of morphological and yield traits of cactus pear accessions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.13, n.3, p.203-207, 2013.

PAIXÃO, S.L. **Avaliação morfológica de clones e progênies de palma forrageira**. 2012. 70 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PEREIRA, V.L.A.; SANTOS, D.C. dos.; SILVA, M. da. C.; ALVES, F.A.L.; SOARES, G.; COSTA, A.F. da.; MESQUITA, F.L.T. de. Selection of genotypes of cactus pear adapted to semiarid conditions of pernambuco state. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 51., 2014, Barra dos Coqueiros. **Anais**. Barra dos Coqueiros: SBZ, 2014. Disponível em: <http://www.sbz.org.br/visualizar.php?idiom=pt&artigo=23234>. Acesso em: 14 julho de 2015.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley & Sons, 1952. 390p.

RÊGO, E.R. do.; RÊGO, M.M. do.; CRUZ, C.D.; FINGER, F.L.; CASALI, V.W.D. Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.58, n.6, p.909-918, 2011.

SALES, A.T.; ANDRADE, A.P.; SILVA, D.S.; LEITE, M.L.M.V.; VIANA, B.L.; RAMOS, J.P.F. Taxa de crescimento relativo de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.1, p.340-346, 2003.

SALES, A.T.; LEITE, M.L.M.V.; ALVES, A.Q.; RAMOS, J.P.F.; NASCIMENTO, J.P. Crescimento vegetativo de palma forrageira em diferentes densidades de plantio no Curimatú Paraibano. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.7, n.1, p.19-24, 2013.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; ARRUDA, G.P.; COELHO, R.S.B.; DIAS, F.M.; MELO, J.N. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia e Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: IPA, 2006. 48p. (IPA. Documento, 30).

SILVA, F.A.S.E.; AZEVEDO, C.A.V. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: World Congress on Computers in Agriculture, 4, Orlando-FL-USA: **Anais**. Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2006. p.393-396.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SILVA, J.A.G. da.; SCHWERTNER, D.V.; CARBONERA, R.; KRUGUER, C.A.M.B.; CRESTANI, M.; GAVIRAGHI, F.; SCHIAVO, J.; ARENHARDT, E.G. Distância genética em genótipos de girassol. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.17, n.3-4, p.326-337, 2011.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.41, n.2, p.237-245, 1981.

VIANA, J.P.G. **Diversidade genética em alho (*Allium sativum* L.)**. 2013. 56 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Teresina.

CAPÍTULO III

Estudo da variabilidade genética, correlação e importância de características químicas e nutricionais em palma forrageira

(Opuntia e Nopalea)

Estudo da variabilidade genética, correlação e importância de características químicas e nutricionais em palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*)

Resumo – A palma forrageira é uma planta muito cultivada no semiárido brasileiro contribuindo significativamente para a alimentação dos rebanhos, principalmente nos períodos de seca. Por apresentar uma grande variabilidade fenotípica entre as variedades cultivadas no Brasil existe a necessidade de se caracterizar a diversidade genética de características químicas e nutricionais. Assim, os objetivos deste estudo foram caracterizar a diversidade genética em sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* através de 20 características químicas e nutricionais, e determinar a correlação e importância dessas características na variabilidade entre os genótipos, utilizando técnicas de análise multivariadas. O estudo foi conduzido na estação experimental do IPA em Arcoverde-PE, utilizando delineamento em bloco ao acaso, com três repetições. Os materiais IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205 e IPA-200149 foram avaliados quanto a 20 características quantitativas das plantas. Os dados coletados foram analisados pela análise de variância pelo teste F, e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). A herdabilidade no sentido amplo e correlação entre as características foram estimadas. A diversidade genética foi estimada por métodos multivariados. As análises de variância e diversidade genética revelaram diferenças significativas entre os genótipos, sendo possível a formação de três ou quatro grupos geneticamente distintos. Os valores de herdabilidade variaram de 78,04–99,99%. O conteúdo de flavonoides e potássio foram as características que mais contribuíram para a divergência genética entre os materiais. Essas características são significativamente correlacionadas com o extrato não nitrogenado e compostos fenólicos. A confirmação da variabilidade genética entre as variedades estudadas de palma serve como potenciais materiais em programas de melhoramento genético. As técnicas de análise multivariadas são eficientes no estudo da diversidade genética de espécies dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*.

Termos para indexação: análise de alimento, análise multivariada, agrupamento, caracterização de forrageiras, distância genética, semiárido brasileiro

Study of genetic variability, correlation and importance of chemical and nutritional characteristics in cactus pear (*Opuntia* and *Nopalea*)

Abstract – The cactus pear is a plant much cultivated in the Brazilian semiarid region contributing significantly to feeding the herds, especially in dry periods. Presently, a great phenotypic variability among the varieties cultivated in Brazil has led to a need to characterize the genetic diversity of chemical and nutritional characteristics. Like this, the objectives of this study were to characterize the genetic diversity in seven varieties of cactus pear of the genera *Opuntia* and *Nopalea* through of 20 characteristics chemical and nutritional, and determine the correlation and importance of these characteristics in the variability between genotypes, using multivariate analysis techniques. The study was conducted at the experimental station of IPA in Arcoverde-PE, using design block at random, with three replications. The materials IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205 and IPA-200149 were evaluated for 20 quantitative traits of plants. The collected data were analyzed by analysis of variance by F test and the averages grouped by the Scott-Knott test ($p < 0.05$). The heritability in the broad sense and correlation between traits were estimated. The genetic diversity was estimated by multivariate methods. The analyses of variance and genetic diversity revealed significant differences between genotypes, with the possible formation of three or four genetically distinct groups. The heritability values ranged from 78.04 to 99.99%. The content of flavonoids and potassium were the characteristics that most contributed to the genetic divergence between the materials. These characteristics are significantly correlated with the nitrogen free extract and phenolic compounds. The confirmation of genetic variability among the varieties studied of cactus pear studied serves as potential materials in breeding programs. The multivariate analysis techniques are effective in the study of genetic diversity of species of the genus *Opuntia* and *Nopalea*.

Index terms: Brazilian semiarid, characterization of forage, clustering, food analysis, genetic distance, multivariate analysis

3.1 Introdução

A palma (*Opuntia* spp. e *Nopalea* spp.) é originária da América tropical e subtropical, mas, atualmente encontra-se em uma grande variedade de condições edafoclimáticas em todos os continentes (América, África, Ásia, Europa e Oceania), nas formas cultivada e silvestre. Essas plantas são utilizadas nesses países para diversos fins, produção de frutas e verduras para consumo humano; forragem para alimentação animal; conservação do solo; biomassa para fins energéticos (biogás e etanol); produção de cochonilha para produção de carmim; e inúmeros subprodutos, como bebidas, queijo vegetariano, remédios e cosméticos (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

No Brasil, estima-se haver, atualmente, aproximadamente 600.000 ha cultivados com as espécies *O. ficus indica* (cv. Gigante e Redonda) e *N. cochenillifera* (cv. Miúda). Apesar dos recentes esforços governamentais para diversificar o uso dessa cultura, a maioria das áreas plantadas ainda é dedicada à produção de forragem. Por ser uma cactácea, apresentando inúmeras características anatômicas, morfológicas, fisiológicas e químicas de adaptação às condições ecológicas de ambientes áridos e semiáridos, tornar-se uma das principais plantas forrageiras utilizada na alimentação de ruminantes, sejam eles caprinos, ovinos ou bovinos no Semiárido Brasileiro. Essa região é caracterizada por apresentar alto índice de evaporação anual, superior a 2.000 mm, e média anual de chuvas inferior a 750 mm, concentrada em um único período de 3 a 5 meses, além disso, muitas áreas da região estão salinizadas (>4,0 dS/m) (ARAÚJO *et al.*, 2005; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

As pesquisas têm revelado que a palma possui um alto conteúdo de diversos compostos químicos que podem ser considerados fitoterápicos naturais e que podem acrescentar valor agregado aos seus produtos. Os cladódios, frutas, sementes, flores e raízes são utilizados no tratamento de gastrite, fadiga, danos hepáticos, digestão, desintoxicação geral, hiperglicemia, hiperlipidemia, acidose, arteriosclerose, cicatrizante, úlceras gástricas, antiinflamatória, neuroprotetora, antimicrobiana, antioxidante, etc. Nessas partes são encontradas fibras hidrocolóides, pigmentos, minerais, vitaminas, e substâncias bioativas com ação nutracêutica (EL-MOSTAFA *et al.*, 2014; NAZARENO, 2013).

Por apresentar uma grande diversidade genética nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, com cerca de 300 espécies (MONDRAGÓN-JACOBO; PÉREZ-GONZÁLEZ, 2001), existe a necessidade de se caracterizar a diversidade genética entre as variedades cultivadas no Brasil. Nos estudos de caracterização da diversidade genética das espécies vegetais os pesquisadores têm interesse em agrupar genótipos similares, de maneira que as maiores diferenças ocorram

entre os grupos formados. Neste aspecto, técnicas multivariadas, como análise discriminante, componentes principais, análise de coordenadas e de agrupamento podem ser aplicadas. A adoção de uma, entre as técnicas citadas, varia de acordo com o padrão de resultado desejado, da precisão, facilidade da análise, e com a informação disponível, seja uma característica morfológica, fisiológica, ecológica, química ou molecular (FERREIRA *et al.*, 2003).

Assim, os objetivos deste estudo foram caracterizar a diversidade genética em sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* através de 20 características químicas e nutricionais, e determinar a correlação e importância dessas características na variabilidade entre os genótipos, utilizando técnicas de análise multivariadas.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local do experimento

O trabalho foi realizado na Estação Experimental de Arcoverde, pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado no município de Arcoverde-PE (8°25' S; 37°05' W), altitude 680,70 m, temperatura média anual $22,90 \pm 1,68$ °C, Umidade Relativa do ar média anual $69,60 \pm 5,30\%$, velocidade do vento média anual $3,92 \pm 0,48$ m/s, evaporação acumulada média 1700,40 mm, precipitação acumulada média anual 798,1 mm, microrregião do sertão do Moxotó (INMET, 2015).

3.2.2 Material vegetal e condução do experimento

Os materiais utilizados estão listados na Tabela 3.1. Os cladódios dos clones foram plantados nos dias 22 e 23 de abril de 2010, espaçados 1,0 x 0,5 m; utilizando-se de um cladódio por cova. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com três repetições. Cada bloco foi composto por três fileiras plantadas com oito plantas de cada variedade. A parcela experimental foi composta pela fileira do meio, sendo úteis seis plantas, 3,0 m² de área útil. O solo foi adubado 30 dias após o plantio, com 20 t.ha⁻¹ de esterco bovino, distribuídos entre as linhas. Periodicamente, foram realizados tratamentos culturais, na forma de capina com enxada, em toda a área cultivada.

As coletas dos materiais foram realizadas, as 8:00 horas da manhã no dia 19 de fevereiro de 2013 (período seco). Após as coletas, o material foi limpo, cortado em pequenos pedaços (2 a 3 cm de comprimento) e secos em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, onde permaneceu por 72 horas, até peso constante, onde se obteve a massa seca ao ar (ASA). O material seco foi

triturado em moinho tipo Willey® e acondicionados em potes plásticos vedados para as determinações químicas e nutricionais.

Tabela 3.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil

Nº	Variedades	Espécie	Nome vulgar
1	IPA-100003	<i>Opuntia ficus indica</i>	IPA-20
2	IPA-200016	<i>Opuntia stricta</i>	Orelha de Elefante Mexicana
3	IPA-200008	<i>Opuntia atropes</i>	F-08
4	IPA-100004	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Miúda
5	IPA-200021	<i>Nopalea cochenillifera</i>	F-21
6	IPA-200205	<i>Nopalea cochenillifera</i>	IPA-Sertânia
7	IPA-200149	<i>Opuntia larreri</i>	-

3.2.3 Determinação de características químicas e nutricionais

Foram determinados os conteúdos de compostos fenólicos totais (CF), flavonoides totais (FLAV), antocianinas totais (ANT), nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na), enxofre (S), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn), matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PT), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB) e extrato não nitrogenado (EEN).

Os CF foi determinado conforme metodologia descrita por Gulcin *et al.* (2004) e os resultados expressos em mg de GAE (equivalente de ácido gálico) por grama de massa seca (mg GAE g⁻¹ MS). Os FLAV foram determinados de acordo com Pereira *et al.* (2009), e os resultados expressos em mg de QE (equivalente de quercetina) por grama de massa seca (mg QE g⁻¹ MS). As ANT segundo Lemos (2008), os resultados foram expressos em µg de (QE) (equivalente quercetina) por 100 gramas de massa seca (µg QE. 100 g⁻¹ MS).

O N, P, K, Ca, Mg, Na, S, Fe, Cu, Zn e Mn foram determinados em conformidade com Malavolta *et al.* (1997), e os resultados foram expressos g.kg⁻¹ ou mg.kg⁻¹. A MS, MM, PT, EE, FB e ENN foram determinados como Messias *et al.* (2013), e os resultados foram expressos em %.

3.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados, inicialmente, pela análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974), em nível de 5% de probabilidade.

A herdabilidade no sentido amplo foi calculada pelo estimador: $h^2 = \sigma_g^2 / \sigma_p^2 \times 100$; onde: σ_g^2 = variância genética e σ_p^2 = variância fenotípica. A variância genética foi calculada

pelo estimador $\sigma_g^2 = \text{MSTreat} - \text{MSRes} / J$; onde: MSTreat = média do quadrado do tratamento; MSRes = média do quadrado do resíduo e J = número de repetições (RÊGO *et al.*, 2011).

A diversidade genética entre as variedades foi estimada utilizando a medida de dissimilaridades expressa pela distância de Mahalanobis (D^2), segundo Cruz *et al.* (2012). Realizou-se o agrupamento pelo método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), método de Otimização de Tocher (RAO, 1952) e o método de Análise de Componentes Principais (CRUZ *et al.* 2012).

A importância relativa dos caracteres em relação à diversidade genética foi estudada segundo metodologia descrita por Singh (1981) e análise de componentes principais (CRUZ *et al.* 2012). As correlações entre as características foram obtidas como descrito por Rêgo *et al.* (2011), testaram a probabilidade de 1 e 5% pelo teste t.

As análises dos dados foram realizadas com o auxílio do programa estatístico GENES®-Aplicativo Computacional em Genética e Estatística (CRUZ, 2001) e Assistat® 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2006).

3.3 Resultados e Discussão

A análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,01$) revelou diferenças significativas para o conteúdo de compostos fenólicos totais (CF), flavonoides totais (FLAV), antocianinas totais (ANT), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), proteína total (PT), extrato etéreo (EE) e extrato não nitrogenado (ENN) e a ($p \leq 0,05$) para o conteúdo de nitrogênio (N), o que confirma haver variabilidade genética entre as variedades de palma forrageira para a maioria das características químicas e nutricionais estudadas. Não foram detectadas diferenças significativas entre o conteúdo de magnésio (Mg), sódio (Na), manganês (Mn), matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e fibra bruta (FB) nas plantas (Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Análise de variância e estimativas do coeficiente de variação ambiental (CVe), da razão entre os coeficientes de variação genético (CVg) e ambiental (CVe), da herdabilidade no sentido amplo (h^2) das características químicas e nutricionais de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Quadrados médios											
F.V	G.L	CF	FLAV	ANT	N	P	K	Ca	Mg	Na	S
Bloco	2	0,00	0,00	0,00	7,51	0,04	0,09	13,23	2,82	0,00	0,00
Variedades	6	0,95**	0,85**	0,03**	20,22*	0,75**	4,97**	39,16**	1,87ns	0,00ns	0,25**
Resíduos	12	0,00	0,00	0,00	4,44	0,05	0,83	1,08	1,51	0,00	0,05
CVe (%)	-	1,93	0,05	4,43	20,19	21,38	24,86	8,15	21,03	20,63	21,45
CVg/CVe	-	15,03	514,56	19,77	1,09	2,12	1,29	3,43	0,28	0,10	1,22
h^2 (%)	-	99,85	99,99	99,91	78,04	93,12	83,29	97,25	19,31	2,96	81,77
Quadrados médios											
F.V	G.L	Fe	Cu	Zn	Mn	MS	MM	PT	EE	FB	ENN
Bloco	2	251,18	60,54	32,88	792,28	0,15	3,48	0,06	0,01	17,50	35,58
Variedades	6	1151,08**	4240,17**	547,01**	41180,40ns	0,60ns	4,25ns	43,35**	0,67**	11,98ns	68,46**
Resíduos	12	187,74	269,76	69,17	18222,31	0,36	1,46	0,67	0,04	8,19	7,54
CVe (%)	-	35,07	31,19	23,77	33,15	0,67	19,73	12,09	11,03	29,03	4,24
CVg/CVe	-	1,31	2,22	1,52	0,65	0,46	0,80	4,59	2,17	0,39	1,64
h^2 (%)	-	83,69	93,64	87,35	55,75	39,29	65,73	98,44	93,37	31,66	88,99

CF compostos fenólicos totais, FLAV flavonoides totais, ANT antocianinas totais, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês, MS matéria seca, MM matéria mineral, PT proteína bruta, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado
ns não significativo, *significativo a 5%, ** significativo a 1% pelo teste F

Guevara-Figueroa *et al.* (2010) estudando a composição centesimal, conteúdo de compostos fenólicos de cladódios de 10 genótipos cultivados e selvagens de *Opuntia* spp. relataram diferenças entre eles em relação a CF, FLAV, PT, EE, FB, ENN, MM. Além disso, Chahdoura *et al.* (2015) estudando a composição nutricional de cladódios de *O. microdasys* e *O. macrorhiza* relataram diferenças para EE, MM, ENN, FB, Cu, Ca, Mg, Na e K entre os mesmos. Esses autores não encontraram diferenças entre MS, PT, Fe, Mn e Zn entre essas espécies.

Bensadón *et al.* (2010) estudando o valor nutricional de cladódios de *Opuntia ficus indica*, variedades Milpa Alta e Atlixco, não encontraram diferenças entre os mesmos na MS, PT, EE, MM, FB e CF. Além disso, Batista *et al.* (2003) estudando a composição química de cladódios de duas variedades do gênero *Opuntia* (Gigante e IPA-20) e uma variedade do gênero *Nopalea* (Miúda) também relataram a não diferenças entre os mesmos em relação a MS, PT, EE, MM, ENN, P, Mg, Fe, Cu e Zn. No entanto, diferenças significativas entre esses genótipos foram relatadas para o conteúdo de Ca e Mn por esses pesquisadores.

Os genótipos estudados apresentaram variação média no conteúdo de CF (1,23 a 2,84 mg GAE g⁻¹ MS), FLAV (1,52 a 3,02 mg QE g⁻¹ MS), ANT (0,05 a 0,34 µg QE. 100 g⁻¹ MS), N (6,41 a 13,73 g.kg⁻¹ MS), P (0,63 a 2,08 g.kg⁻¹ MS), K (1,83 a 7,74 g.kg⁻¹ MS), Ca (7,30 a 17,22 g.kg⁻¹ MS), Mg (4,63 a 7,09 g.kg⁻¹ MS), Na (0,11 a 0,14 g.kg⁻¹ MS), S (0,44 a 1,30 g.kg⁻¹ MS), Fe (14,68 a 69,27 mg.kg⁻¹ MS), Cu (2,07 a 93,02 mg.kg⁻¹ MS), Zn (23,33 a 63,79 mg.kg⁻¹ MS), Mn (246,12 a 598,45 mg.kg⁻¹ MS), MS (10,09 a 11,12%), MM (4,12 a 8,09% na MS), PT (3,94 a 14,90% na MS), EE (1,34 a 2,73% na MS), FB (7,37 a 12,59% na MS) e ENN (56,07 a 71,87% na MS) (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Média das características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Características	Variedades						
	1	2	3	4	5	6	7
CF	2,84 a	1,84 e	1,28 f	1,93 d	2,16 c	1,23 f	2,25 b
FLAV	3,02 a	1,57 f	2,26 d	2,51 b	2,33 c	1,52 g	1,93 e
ANT	0,16 b	0,05 d	0,05 d	0,08 c	0,07 c	0,06 d	0,34 a
N	12,15 a	12,93 a	9,20 b	9,21 b	9,36 b	6,41 b	13,73 a
P	1,29 b	0,74 b	2,08 a	0,86 b	0,78 b	0,63 b	1,03 b
K	4,74 a	4,35 a	2,35 b	2,88 b	5,13 a	1,83 b	4,34 a
Ca	15,08 b	13,46 b	17,22 a	10,00 c	10,26 c	15,75 a	7,30 d
Mg	4,63 a	6,15 a	5,70 a	5,58 a	7,09 a	5,36 a	6,38 a
Na	0,11 a	0,11 a	0,14 a	0,11 a	0,11 a	0,11 a	0,11 a
S	0,89 b	0,86 b	1,30 a	1,12 a	0,44 c	1,12 a	1,18 a
Fe	58,49 a	69,27 a	44,49 a	28,20 b	23,08 b	35,22 b	14,68 b
Cu	2,07 c	2,14 c	86,96 a	49,74 b	59,26 b	93,02 a	75,28 a
Zn	63,79 a	34,73 b	31,06 b	27,97 b	23,33 b	27,22 b	36,75 b
Mn	598,45 a	418,93 a	246,12 a	450,37 a	294,64 a	469,75 a	371,77 a
MS	10,09 a	11,12 a	10,60 a	11,01 a	10,30 a	11,10 a	10,14 a
MM	6,20 a	6,48 a	8,09 a	5,45 a	6,18 a	4,12 a	6,26 a
PT	14,90 a	7,18 b	4,17 c	5,39 c	4,86 c	3,94 c	7,08 b
EE	2,32 b	1,34 c	1,70 c	1,76 c	2,73 a	1,59 c	1,95 c
FB	10,40 a	8,69 a	12,59 a	10,13 a	11,96 a	7,37 a	7,82 a
ENN	56,07 c	65,18 b	62,83 b	66,24 b	63,86 b	71,87 a	66,73 b

CF compostos fenólicos totais (mg GAE g⁻¹ MS), FLAV flavonoides totais (mg QE g⁻¹ MS), ANT antocianinas totais (µg QE. 100 g⁻¹ MS), N nitrogênio (g.kg⁻¹ MS), P fósforo (g.kg⁻¹ MS), K potássio (g.kg⁻¹ MS), Ca cálcio (g.kg⁻¹ MS), Mg magnésio (g.kg⁻¹ MS), Na sódio (g.kg⁻¹ MS), S enxofre (g.kg⁻¹ MS), Fe ferro (mg.kg⁻¹ MS), Cu cobre (mg.kg⁻¹ MS), Zn zinco (mg.kg⁻¹ MS), Mn manganês (mg.kg⁻¹ MS), MS matéria seca (%), MM matéria mineral (% na MS), PT proteína bruta (% na MS), EE extrato etéreo (% na MS), FB fibra bruta (% na MS), ENN extrato não nitrogenado (% na MS)

*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, (p<0,05)

A maioria dos valores encontrados nesse trabalho está de acordo com os relatados na literatura, com exceção do CF, K, Ca, Mg, Na, S e Fe que tiveram valores inferiores aos descritos. Essa variação para o conteúdo de CF foi (2,00 a 37,10 mg GAE g⁻¹ MS), FLAV (2,00 a 9,80 mg QE g⁻¹ MS), N (1,81 a 30,40 g.kg⁻¹ MS), P (0,70 a 6,00 g.kg⁻¹ MS), K (25,90 a 2.250 g.kg⁻¹ MS), Ca (17,00 a 375,00 g.kg⁻¹ MS), Mg (8,00 a 725,00 g.kg⁻¹ MS), Na (0,75 a 142,50 g.kg⁻¹ MS), S (1,50 a 5,10 g.kg⁻¹ MS), Fe (40,30 a 750,00 mg.kg⁻¹ MS), Cu (4,06 a 41,25 mg.kg⁻¹ MS), Zn (22,00 a 120,80 mg.kg⁻¹ MS), Mn (62,00 a 984,41 mg.kg⁻¹ MS), MS (5,65 a 14,4%), MM (5,20 a 20,13% na MS), PT (1,13 a 19,00% na MS), EE (0,10 a 2,10% na MS), FB (6,20 a 77,5% na MS) e ENN (42,40 a 80,90% na MS) (BATISTA *et al.*, 2003; BENSADÓN *et al.*, 2010; CHAHDOURA *et al.*, 2015; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2010; GUEVARA-FIGUEROA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012).

Os componentes químicos das plantas têm uma ampla variação, tanto na composição quanto no conteúdo, e variam entre espécies e dentro da mesma espécie. Os fatores que

contribuem para essa diferença no gênero *Opuntia* são os fatores genéticos, condições ambientais de crescimento, solos, tratos culturais, período de coleta, estresses, idade das plantas, ordem do cladódio analisado, tecidos analisados, temperatura de secagem do cladódio, métodos de extração e diferenças nas metodologias utilizadas nas determinações (BARI *et al.*, 2012; SANTOS-ZEA *et al.*, 2011).

As diferenças significativas entre as variedades, para alguns componentes químicos já eram esperadas, tendo em vista que se trata de materiais vegetais que possuem características fenotípicas divergentes. Essa situação é uma indicação favorável para o estudo da divergência genética.

A razão entre o coeficiente de variação genético (CVg) e ambiental (CVe), ficou acima de um para as características CF, FLAV, ANT, N, P, K, Ca, S, Fe, Cu, Zn, PT, EE e ENN com valores de herdabilidade (h^2) entre 78,04 – 99,99%. Indicando alto controle genético entre essas características. Para as características Mg, Na, Mn, MS, MM e FB a (CVg)/(CVe) foi inferior a um, indicando o domínio do ambiente nessas características (Tabela 3.2).

Constatada a existência de variabilidade genética entre os genótipos, procedeu-se ao estudo da divergência genética entre os materiais. Para as características, em que a análise de variância foi significativa, foram identificadas diferenças ($p \leq 0,05$), por meio do teste de Scott-Knott, sendo observado a formação de dois (N, P, K, Fe e Zn), três (S, Cu, PT, EE, ENN), quatro (ANT e Ca), seis (CF) e sete (FLAV) grupos de médias (Tabela 3.3).

O método de agrupamento de Tocher reuniu as sete variedades em três grupos distintos. O grupo I foi representado pelos genótipos 3, 5, 4 e 7; o grupo II pelos 2 e 6; e grupo III pelo genótipo 1 (Tabela 3.4).

De acordo com o dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA, as variedades de palma foram reunidas em três grupos, considerando-se o corte de 45%, respectivamente, da distância genética relativa (CRUZ *et al.*, 2012). Distribuição essa similar ao obtido pelo método de Tocher (Tabela 3.4 e Figura 3.1).

Tabela 3.4. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características químicas e nutricionais, a distância generalizada de Mahalanobis e o método de otimização de Tocher

Grupo	Variedades
I	3, 5, 4, 7
II	2, 6
III	1

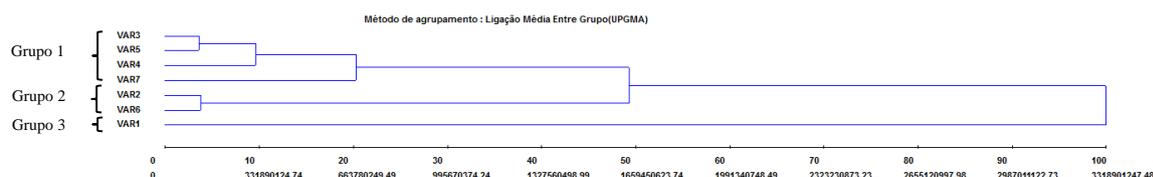


Figura 3.1. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base características químicas e nutricionais

A análise dos componentes principais demonstrou que a utilização das três primeiras variáveis foi suficiente para explicar quase 77% da variação total obtida nos sete genótipos avaliados (Tabela 3.5). Assim, uma descrição razoável da divergência genética dos genótipos poderá ser feita por essas componentes no plano bidimensional ou tridimensional. Segundo Cruz *et al.* (2012), é necessário que as primeiras componentes principais fiquem próximo de 80% do valor acumulado para explicar a variabilidade manifestada entre os indivíduos, levando a interpretação do fenômeno com considerável simplificação das características no plano bidimensional ou tridimensional. Ao analisar o gráfico de dispersões dos escores da análise de componentes principais observa-se a formação de quatro grupos. Os genótipos ficaram divididos no grupo I (2, 4 e 6), grupo II (5 e 7), grupo III (1) e grupo IV (3) (Figura 3.2).

Tabela 3.5. Estimativa dos autovalores associados aos componentes principais e importância relativa (autovetores) referente a 20 características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Componentes	Raiz (autovalor)	Raiz %	% Acumulada	Importância relativa (autovetores)									
				CF	FLAV	ANT	N	P	K	Ca	Mg	Na	S
1	7,07	35,34	35,34	0,35	0,26	0,16	0,25	0,04	0,29	-0,06	-0,08	-0,12	-0,14
2	4,43	22,13	57,47	-0,12	0,17	-0,16	-0,06	0,43	-0,15	0,33	-0,18	0,42	0,17
3	3,82	19,09	76,56	0,04	0,07	0,11	0,04	0,11	0,18	-0,25	0,40	0,11	-0,15
4	2,33	11,64	88,20	0,02	-0,02	0,51	0,18	0,19	-0,16	-0,15	-0,15	0,08	0,49
5	1,82	9,08	97,28	-0,05	-0,36	0,05	0,48	0,01	0,20	-0,07	0,26	0,06	0,03
6	0,54	2,72	99,99	-0,12	-0,45	0,12	-0,08	0,02	0,13	0,50	0,08	0,04	-0,27
7	0,00	0,00	99,99	0,03	0,07	-0,13	0,02	-0,06	-0,02	-0,01	-0,10	-0,06	0,01
...										
19	0,00	0,00	99,99	-0,17	-0,03	-0,29	0,02	-0,09	-0,19	-0,17	0,02	0,02	0,19
20	0,00	0,00	100,00	-0,02	-0,06	0,02	0,21	0,05	-0,06	-0,01	-0,11	0,04	0,23

Componentes	Raiz (autovalor)	Raiz %	% Acumulada	Importância relativa (autovetores)									
				Fe	Cu	Zn	Mn	MS	MM	PT	EE	FB	ENN
1	7,07	35,34	35,34	0,10	-0,27	0,31	0,18	0,27	0,09	0,34	0,20	0,07	-0,32
2	4,43	22,13	57,47	0,19	0,02	0,10	-0,12	0,04	0,34	0,02	-0,05	-0,32	-0,23
3	3,82	19,09	76,56	-0,32	0,19	-0,21	-0,39	0,24	0,23	-0,18	0,30	0,26	-0,03
4	2,33	11,64	88,20	-0,26	0,26	0,14	0,03	0,24	0,02	0,05	-0,14	-0,26	0,09
5	1,82	9,08	97,28	0,31	-0,26	-0,27	-0,19	-0,13	0,34	-0,02	-0,37	-0,13	0,01
6	0,54	2,72	99,99	0,15	0,26	0,18	-0,07	0,36	-0,06	0,09	0,23	-0,24	0,05
7	0,00	0,00	99,99	0,14	-0,20	0,02	0,13	0,61	-0,02	-0,67	-0,17	0,01	0,06
...										
19	0,00	0,00	99,99	0,11	-0,20	-0,28	-0,04	0,44	0,05	0,52	0,14	0,03	0,35
20	0,00	0,00	99,99	0,18	-0,16	0,06	0,07	-0,26	0,10	-0,30	0,75	-0,11	0,19

CF compostos fenólicos totais (mg GAE g⁻¹ MS), FLAV flavonoides totais (mg QE g⁻¹ MS), ANT antocianinas totais (µg QE. 100 g⁻¹ MS), N nitrogênio (g.kg⁻¹ MS), P fósforo (g.kg⁻¹ MS), K potássio (g.kg⁻¹ MS), Ca cálcio (g.kg⁻¹ MS), Mg magnésio (g.kg⁻¹ MS), Na sódio (g.kg⁻¹ MS), S enxofre (g.kg⁻¹ MS), Fe ferro (mg.kg⁻¹ MS), Cu cobre (mg.kg⁻¹ MS), Zn zinco (mg.kg⁻¹ MS), Mn manganês (mg.kg⁻¹ MS), MS matéria seca (%), MM matéria mineral (% na MS), PT proteína bruta (% na MS), EE extrato etéreo (% na MS), FB fibra bruta (% na MS), ENN extrato não nitrogenado (% na MS)

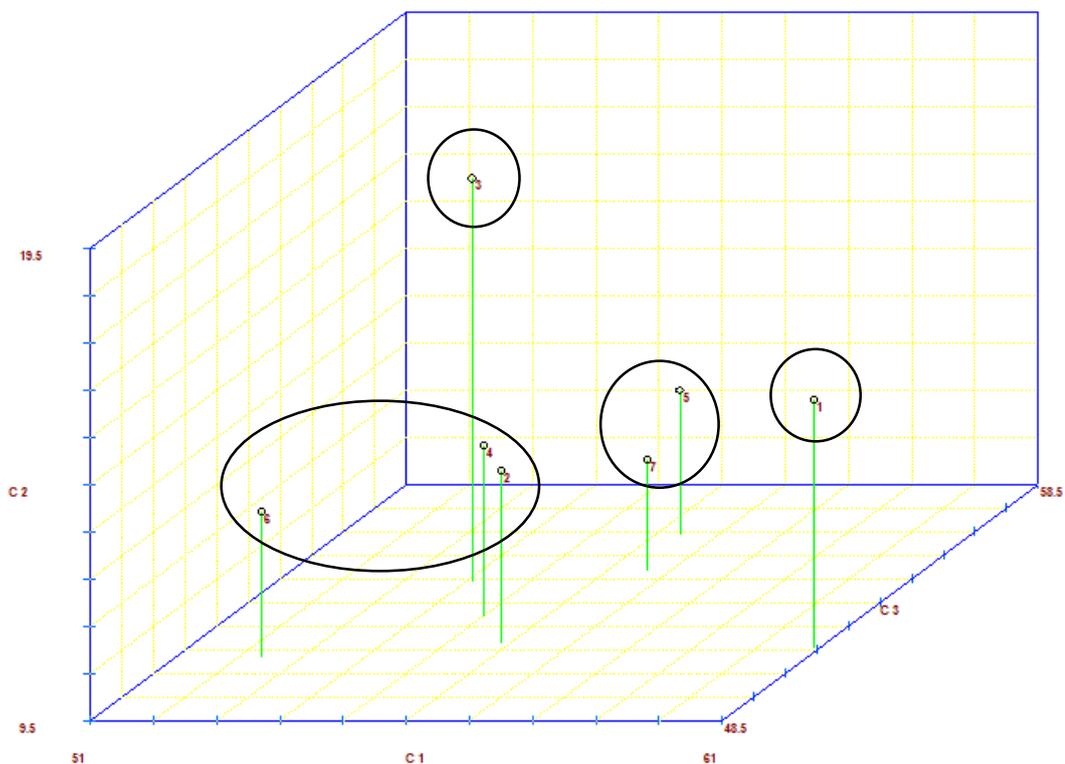


Figura 3.2. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base vinte características químicas e nutricionais

O agrupamento dos genótipos pelo método de componentes principais divergiu um pouco ao obtido pelo método hierárquico UPGMA e Tocher. Onde classificou o genótipo 3 em um grupo isolado, e que o genótipo 4 apresenta similaridade com 2 e 6 (Figura 3.1 e 3.2; Tabela 3.4).

A análise de agrupamento (*cluster analysis*) identifica grupos de indivíduos similares após a estimação de uma matriz de dissimilaridade. Há vários métodos de agrupamento que se diferenciam pelo tipo de resultado e pelas diferentes formas de definir a proximidade entre indivíduos ou grupos formados. Em todos os casos, não se conhece *a priori*, o número de grupos a ser estabelecido e diferentes métodos proporcionam diferentes resultados (CRUZ *et al.*, 2012).

Os métodos de agrupamento baseiam-se, principalmente, em métodos hierárquicos, de otimização e de ordenação. Nos hierárquicos, destaca-se o método da distância média entre grupos (UPGMA), onde os agrupamentos são identificados na forma de dendrogramas, dispostos em vários níveis e não leva em conta o número ótimo de grupos. Nos de otimização, destaca-se o algoritmo de Tocher, onde o objetivo é alcançar uma partição dos indivíduos que otimize (maximize ou minimize) alguma medida predefinida. Baseia-se na formação de grupos

em que as distâncias dentro dos grupos sejam menores que as distâncias entre grupos, obtendo-se o número ótimo de grupos. Nos de ordenação, sobressai-se a técnica de análise de componentes principais que visa à redução na dimensionalidade das variáveis, de forma que a nova combinação de variáveis lineares não correlacionadas resultante, explique a estrutura de variância e covariância do conjunto de variáveis originais, resultando no agrupamento dos indivíduos, com base nas dispersões em relação aos eixos cartesianos (CRUZ *et al.*, 2012).

O uso de técnicas multivariadas na detecção da diversidade genética exige certo grau de estruturação nos dados. Diante disto, é importante que critérios diferentes de agrupamento sejam utilizados e que se considere como correta a estrutura consenso da maior parte deles, para que seja assegurado que o resultado obtido não seja um artefato da técnica utilizada (ARRIEL *et al.*, 2006; VIANA, 2013).

As características que mais contribuíram para a variância total na primeira componente foram CF e PT. Na segunda componente destacaram-se P e Na. Na terceira componente ficaram Mg e Mn (Tabela 3.5). As características de maior importância são aquelas cujos coeficientes de ponderação (autovetores) são de maior magnitude, em valor absoluto, nas primeiras componentes principais (CRUZ *et al.*, 2012).

Essas, portanto, seriam as características mais responsivas nos processos seletivos entre populações de palma. As outras características contribuíram muito pouco com a divergência entre os genótipos estudados e poderiam ser desprezadas (RÊGO *et al.*, 2011).

A formação de três grupos de palma pelos métodos UPGMA e Tocher e quatro grupos pelo método de componentes principais, fornecem informações relevantes para a conservação de material genético como fonte para programas de melhoramento. Segundo Silva *et al.* (2011), os cruzamentos entre genótipos de grupos distintos fornecem linhagens superiores para o melhoramento de características de interesse. A obtenção de linhagens a partir de variedades comerciais é uma alternativa viável, pois representam genótipos já melhorados e testados em vários ambientes de cultivo. Considerando híbridos, ainda é possível contar com elevada proporção de locos distintos fixados, facilitando a seleção e recombinação de alelos favoráveis (AMORIM; SOUZA, 2005).

Assim, como sugestão para o programa de melhoramento com o gênero *Opuntia* e *Nopalea*, o melhorista deve considerar não somente a distância entre grupos como critério para orientar os cruzamentos, mas também o desempenho individual do genótipo para cada característica de interesse agrônômico e zootécnico (FERREIRA *et al.*, 2003). Além da possibilidade e facilidade de obter cruzamentos viáveis entre indivíduos de diferentes gêneros

ou espécies. Uma vez que, em muitos casos não é possível obter cruzamentos viáveis entre plantas de espécies diferentes por meios naturais, sendo possível, apenas, por métodos não convencionais, ou através de técnicas de biotecnologia (PAIXÃO, 2012).

Na análise da contribuição relativa das características para a diversidade genética entre as sete variedades de palma por meio da metodologia de Singh (1981), o FLAV contribuiu com 46,30%, e o K com 14,07% para a variabilidade entre os genótipos. Essas duas características contribuíram com 60,37% da variabilidade total entre os materiais. As características que menos contribuíram para a divergência foram Cu, EE, Mn e Mg (Tabela 3.6). As variáveis de menor contribuição são pouco informativas na caracterização da variabilidade genética existente, e podem ser descartadas em estudos de divergência genética (RÊGO *et al.*, 2011).

Tabela 3.6. Contribuição relativa de 20 características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, por meio da metodologia de Singh (1981)

Características	Contribuição relativa (%)
CF	7,33
FLAV	46,30
ANT	0,80
N	1,78
P	5,03
K	14,07
Ca	1,33
Mg	0,34
Na	0,00
S	8,06
Fe	0,71
Cu	0,08
Zn	2,42
Mn	0,19
MS	1,10
MM	0,63
PT	3,13
EE	0,12
FB	1,95
ENN	4,63

CF compostos fenólicos totais (mg GAE g⁻¹ MS), FLAV flavonoides totais (mg QE g⁻¹ MS), ANT antocianinas totais (µg QE. 100 g⁻¹ MS), N nitrogênio (g.kg⁻¹ MS), P fósforo (g.kg⁻¹ MS), K potássio (g.kg⁻¹ MS), Ca cálcio (g.kg⁻¹ MS), Mg magnésio (g.kg⁻¹ MS), Na sódio (g.kg⁻¹ MS), S enxofre (g.kg⁻¹ MS), Fe ferro (mg.kg⁻¹ MS), Cu cobre (mg.kg⁻¹ MS), Zn zinco (mg.kg⁻¹ MS), Mn manganês (mg.kg⁻¹ MS), MS matéria seca (%), MM matéria mineral (% na MS), PT proteína bruta (% na MS), EE extrato etéreo (% na MS), FB fibra bruta (% na MS), ENN extrato não nitrogenado (% na MS)

A maioria das características químicas e nutricionais não foram correlacionadas significativamente entre si. Com exceção de Na que teve correlação positiva ($p \leq 0,01$) com P (0,88) e Zn com PT (0,97) (Tabela 3.7).

O fósforo está presente em todo o metabolismo das plantas. As principais funções desse elemento é fazer parte de moléculas como DNA, RNA, fosfolipídios de membranas; participa no transporte de substratos (glicose fosfato, coenzimas); atua no transporte e transdução de energia química (ATP e NADPH); participa da sinalização celular (inositol trifosfato); modifica proteínas irreversivelmente, é um constituinte de biominerais, etc. (EPSTEIN; BLOOM, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

O sódio não é um nutriente essencial para a maioria das plantas. Na verdade, o maior interesse do estudo desse íon é pelo fato de sua concentração nos solos das regiões áridas e semiáridas serem altas, prejudicando ou mesmo impedindo o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Entretanto, esse íon tem função importante no ajustamento osmótico de plantas expostas ao estresse salino ou hídrico nessas regiões. Além disso, ele tem função como nutriente essencial ao crescimento de algumas plantas C4 e CAM (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Algumas plantas C4 e CAM precisam desse nutriente para fazer sua fotossíntese, no entanto, não se sabe se essa função essencial tem um papel bioquímico ou biofísico. O que se sabe é que esse processo se concentra no metabolismo inicial de quatro carbonos que acontece nas células do mesófilo, ou no transporte dessa molécula entre as células do mesófilo e bainha do feixe vascular. Os estudos indicam que o sódio facilita a absorção de piruvato pelos cloroplastos do mesófilo, talvez ativando o transportador de piruvato, ainda poderia manter a integridade funcional dos cloroplastos do mesófilo (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Além disso, o Na^+ está envolvido na regeneração do fosfoenolpiruvato e substitui o K^+ em algumas funções nas plantas C4 e CAM (TAIZ; ZEIGER, 2013).

O fósforo participa das reações de fotossíntese e respiração fazendo parte nas moléculas de NADPH, ATP e vários intermediários gerados por esses processos. A correlação positiva entre P e Na pode ser explicada pelo fato da palma forrageira ser uma planta com metabolismo fotossintético CAM e precisar do Na^+ para fazer a fotossíntese.

O zinco faz parte de muitas proteínas, em muitas enzimas esse íon metálico é exigido no sítio ativo (anidrase carbônica, dismutase de superóxido, desidrogenase de álcool, desidrogenase glutâmica); em outras é um componente integral, não participando do sítio ativo (EPSTEIN; BLOOM, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013). Por isso, a correlação positiva entre Zn e PT.

Correlações positivas ($p \leq 0,05$) também foram encontradas entre CF e K (0,82) ou PT (0,83); e entre P e MM (0,80) (Tabela 3.7).

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe de metabólitos secundários que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Dentre essas substâncias encontram-se estruturas tão variadas quanto a dos ácidos fenólicos, dos derivados da cumarina, dos pigmentos hidrossolúveis das flores, dos frutos e das folhas, as ligninas, os taninos, etc. Ademais, os compostos fenólicos fazem parte da estrutura de proteínas, alcaloides e terpenóides (CARVALHO *et al.*, 2010). Diversas funções são atribuídas a esses compostos desde proteção a estresses bióticos e abióticos, atrativos de polinizadores e dispersores de semente, suporte mecânico, proteção contra radiação ultravioleta, etc. (TAIZ; ZEIGER, 2013). Por isso, a correlação positiva entre CF e PT, por fazer parte da estrutura de várias proteínas.

O potássio embora seja o mais abundante mineral catiônico constituinte das plantas e possa constituir até 10% do peso seco de uma planta, não é um constituinte integral de qualquer metabólito que possa ser isolado de material vegetal. Ele está presente no citosol e vacúolos das células como íon livre (K^+) em altas concentrações. As principais funções desse íon estão no ajustamento osmótico em plantas expostas ao estresse salino ou hídrico, ativação de enzimas, estabilização da configuração funcional de macromoléculas, participação no transporte através da membrana de íons, neutralização de ânions, manutenção do potencial osmótico e transporte de nutrientes orgânicos e inorgânicos (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Por isso a correlação positiva entre K e CF, uma vez que muitas destas substâncias fazem parte de proteínas ou outras macromoléculas e precisam ser estabilizadas quimicamente.

As cinzas ou matéria mineral fornece uma indicação da riqueza da amostra em elementos minerais. Os principais elementos encontrados são os cátions cálcio, potássio, sódio, magnésio, ferro, cobre, cobalto e alumínio; e os ânions sulfato, cloreto, silicato e fosfato, elementos esses que são absorvidos do ambiente, seja pelas raízes ou parte aérea da planta (MESSIAS *et al.*, 2013). Por isso a correlação positiva encontrada entre o P e MM nas amostras de palma.

Correlações negativas ($p \leq 0,05$) foram encontradas entre FLAV com ENN (-0,81); e entre ENN com Zn (-0,76) ou PT (-0,78) (Tabela 3.7).

Em nutrição animal o extrato não nitrogenado representa os carboidratos não estruturais, solúveis em ácidos e bases, geralmente compostos por amido, açúcares e pectina. Indica o valor energético de um alimento, e é calculado pela diferença das demais frações da matéria orgânica

ou da matéria seca (FB, EE, PT e MM) (DETMANN *et al.*, 2012; MESSIAS *et al.*, 2013). Por isso a correlação negativa entre ENN e PT.

Os flavonoides fazem parte de um importante grupo de metabólitos secundários, os compostos fenólicos. A maioria dos representantes desse grupo possuem em sua estrutura 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituídos de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas. Essas moléculas encontram-se dentro das células na forma livre ou conjugadas com açúcares (ZUANAZZI; MONTANHA, 2010).

Diversas funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas. As mais importantes podemos citar: proteção contra a incidência de raios ultravioleta e visível; proteção contra o ataque de insetos, fungos, vírus e bactérias; atração de animais e insetos com finalidade de polinização e dispersão das sementes; antioxidantes; controle de ação hormonal; agentes alelopáticos; inibidores de enzimas, proteção contra estresses abióticos, etc. (BARTWAL *et al.*, 2013; ZUANAZZI; MONTANHA, 2010). Por isso, os flavonoides é a classe de metabólitos secundários, mais abundante, presente em espécies dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*.

O conteúdo de flavonoides é influenciado por fatores ambientais. O estresse salino, hídrico, temperatura e luminosidade a qual as plantas de palma estão expostas aumentam o conteúdo desses metabólitos na planta (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; RODZIEWICZ *et al.*, 2014). No entanto, esses estresses reduzem o crescimento e desenvolvimento das plantas, por influenciar negativamente na fotossíntese e consequentemente na produção de carboidratos (BARTWAL *et al.*, 2013).

Além disso, como o metabolismo primário (carboidratos) está intimamente relacionado com o metabolismo secundário (compostos fenólicos), alterações no primeiro podem afetar profundamente o segundo. Ademais, muitos metabólitos secundários são formados por sequencias de reações análogas aquelas do metabolismo primário. Assim sob condições de estresse o carbono que seria utilizado na produção de carboidratos seria desviado para a produção de metabólitos secundários (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; SANTOS, 2010). Por isso a correlação negativa entre ENN e FLAV.

Além disso, as plantas para se protegerem dos estresses abióticos (hídrico, salino temperatura e radiação elevada) produzem várias enzimas antioxidantes, a exemplo da dismutase de superóxido, que tem o zinco como um de seus cofatores. Por isso, a correlação negativa entre Zn e ENN. Uma vez que o carbono que seria utilizado na produção de carboidratos seria desviado para a produção dessas enzimas (EPSTEIN; BLOOM, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Conforme Cruz *et al.* (2012), a existência de correlações significativas indica a viabilidade da seleção indireta para obtenção de ganhos na característica de maior importância. Dentre os genótipos que mais se destacaram com as maiores médias gerais para as características químicas e nutricionais foram 1, 3 e 5 (Tabela 3.3). Assim, cruzamentos envolvendo esses genótipos poderiam gerar progênes superiores em características de interesse agrônomico, zootécnicos ou fisiológicos.

Esses resultados sugerem perspectivas de trabalhos futuros com o objetivo de explorar a variabilidade encontrada entre os genótipos de palma estudados e a possibilidade de utilização de outras metodologias, como a de marcadores moleculares de proteínas, marcadores químicos (metabólitos secundários), características fisiológicas e bioquímicas, e também a variação cromossômica para a determinação da variabilidade genética; proporcionando uma análise complementar aos estudos realizados por meio de características químicas e nutricionais.

Tabela 3.7. Correlações entre as características químicas e nutricionais das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco

Características	CF	FLAV	ANT	N	P	K	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn	MS	MM	PT	EE	FB	ENN	
CF	1	0,65 ns	0,53 Ns	0,65 ns	-0,11 ns	0,82 *	-0,42 ns	-0,09 ns	-0,53 ns	-0,45 ns	0,04 ns	-0,65 ns	0,70 ns	0,49 ns	0,70 ns	0,05 ns	0,83 *	0,61 ns	0,05 ns	-0,69 ns	
FLAV		1	0,11 Ns	0,13 ns	0,40 ns	0,33 ns	-0,00 ns	-0,36 ns	0,06 ns	-0,16 ns	0,01 ns	-0,34 ns	0,56 ns	0,28 ns	0,59 ns	0,28 ns	0,60 ns	0,62 ns	0,61 ns	-0,81 *	
ANT			1	0,63 ns	0,02 ns	0,37 ns	-0,59 ns	0,05 ns	-0,28 ns	0,22 ns	-0,44 ns	0,05 ns	0,38 ns	0,14 ns	0,69 ns	0,03 ns	0,37 ns	0,22 ns	-0,38 ns	-0,10 ns	
N				1	0,06 ns	0,70 ns	-0,42 ns	0,12 ns	-0,23 ns	-0,07 ns	0,22 ns	-0,59 ns	-0,53 ns	0,14 ns	0,48 ns	0,42 ns	0,58 ns	0,03 ns	-0,14 ns	-0,46 ns	
P					1	-0,20 ns	0,46 ns	-0,26 ns	0,88 **	0,46 ns	0,16 ns	0,17 ns	0,26 ns	-0,35 ns	0,38 ns	0,80 *	0,09 ns	-0,00 ns	0,62 ns	-0,50 ns	
K						1	-0,48 ns	0,39 ns	-0,48 ns	-0,73 ns	0,06 ns	-0,62 ns	0,38 ns	0,09 ns	0,59 ns	0,23 ns	0,55 ns	0,62 ns	0,14 ns	-0,56 ns	
Ca							1	-0,58 ns	0,55 ns	0,22 ns	0,66 ns	-0,01 ns	0,22 ns	0,10 ns	-0,26 ns	0,16 ns	0,07 ns	-0,31 ns	0,23 ns	-0,19 ns	
Mg								1	-0,09 ns	-0,46 ns	-0,46 ns	0,23 ns	-0,66 ns	-0,73 ns	0,03 ns	0,18 ns	-0,54 ns	0,26 ns	0,13 ns	0,31 ns	
Na									1	0,49 ns	0,12 ns	0,41 ns	-0,14 ns	-0,59 ns	-0,00 ns	0,71 ns	-0,32 ns	-0,22 ns	0,59 ns	-0,14 ns	
S										1	-0,06 ns	0,43 ns	0,02 ns	-0,01 ns	-0,16 ns	0,09 ns	-0,17 ns	-0,65 ns	-0,25 ns	-0,27 ns	
Fe											1	-0,70 ns	0,49 ns	0,37 ns	-0,26 ns	0,24 ns	0,45 ns	-0,38 ns	0,05 ns	-0,43 ns	
Cu												1	0,62 ns	-0,56 ns	-0,07 ns	-0,11 ns	-0,74 ns	-0,05 ns	-0,01 ns	0,62 ns	
Zn													1	0,69 ns	0,55 ns	0,14 ns	0,97 **	0,18 ns	-0,03 ns	-0,76 *	
Mn														1	0,01 ns	-0,55 ns	0,72 ns	-0,04 ns	-0,46 ns	-0,24 ns	
MS															1	0,37 ns	0,56 ns	0,72 ns	0,28 ns	-0,63 ns	
MM																1	0,08 ns	0,06 ns	0,67 ns	-0,56 ns	
PT																	1	0,30 ns	-0,02 ns	-0,78 *	
EE																		1	0,47 ns	-0,48 ns	
FB																				1	-0,58 ns
ENN																					1

* e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t
ns. não significativo

3.4 Conclusões

As sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* apresentam divergência genética. Os métodos multivariados utilizados para a divergência agrupam esses genótipos em três ou quatro grupos.

As características que mais contribuem para a diversidade genética entre as variedades são os conteúdos de flavonoides e potássio. Essas características são correlacionadas com o extrato não nitrogenado e compostos fenólicos totais.

As técnicas de análise multivariadas são eficientes no estudo da diversidade genética de espécies dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*.

3.5 Referências

AMORIM, E.P.; SOUZA, J.C. Híbridos de milho inter e intrapopulacionais obtidos a partir de populações S0 de híbridos simples. **Bragantia**, v.64, n.4, p.561-567, 2005.

ARAÚJO, L.F.; OLIVEIRA, L.S.C.; PERAZZO-NETO, A.; ALSINA, O.L.S.; SILVA, F.L.H. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: Relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.3, p.379-384, 2005.

ARRIEL, N.H.C.; DI-MAURO, A.O.; DI-MAURO, S.M.Z.; BAKKE, O.A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; CAPELOTO, A.; CORRADO, A.R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, 2006.

BARI, M.N.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K.; RASOOL, N.; BUKHARI, I.H.; AKRAM, S.; BOKHARI, T.H.; SHAHID, M.; HAMEED, M. AHMAD, V.U. Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, n.4, v.34, p.990-995, 2012.

BARTWAL, A.; MALL, R.; LOHANI, P.; GURU, S.K.; ARORA, S. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, n.1, p.216-232, 2013.

BATISTA, A.M.; MUSTAFA, A.F.; MCALLISTER, T.; WANG, Y.; SOITA, H.; MCKINNON, J.J. Effects of variety on chemical composition, *in situ* nutrient disappearance and *in vitro* gas production of spineless cacti. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, n.5, p.440-445, 2003.

BENSADÓN, S.; HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; SÁYAGO-AYERDI, S.; GOÑI, I. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. **Plant Foods Human Nutrition**, v.65, p.210-216, 2010.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editoras da UFRGS/UFSC, 2010. cap. 20, p. 519-535.

CHAHDOURA, H.; MORALES, P.; BARREIRA, J.C.M.; BARROS, L.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; FERREIRA, I.C.F.R.; ACHOUR, L. Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff and *Opuntia macrorhiza* (Engelm.). **Food Science and Technology**, v.64, n.1, p.446-451, 2015.

CRUZ, C.D. **Programa GENES: Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. Ed. Viçosa: UFV, 2012. 514p.

DETMANN, E.; VALADARES-FILHO, S. de. C.; AZEVEDO, J.A.G. Avaliação do teor de carboidratos não fibrosos em alimentos e dietas. In: DETMANN, E. *et al.* **Métodos para análise de alimentos**. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. cap. 8, p. 113-125.

DUBEUX-JUNIOR, J.C.B.; ARAÚJO-FILHO, J.T.; SANTOS, M.V.F. dos.; LIRA, M. de. A.; SANTOS, D.C. dos.; PESSOA, R.A.S. Adubação mineral no crescimento e composição mineral da palma forrageira – Clone IPA-20. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.1, p.129-135, 2010.

DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F. dos.; CAVALCANTE, M.; SANTOS, D.C. dos. Potencial da palma forrageira na América do Sul. **Cactusnet Newsletter**, v.13, ed. esp., p.29-40, 2013.

EL-MOSTAFA, K.; EL-KHARRASSI, Y.; BADREDDINE, A.; ANDREOLETTI, P.; VAMECQ, J.; EL-KEBBAJ, M'H.S.; LATRUFFE, N.; LIZARD, G.; NASSER, B.; CHERKAOUI-MALKI, M. Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. **Molecules**, v.17, n.9, p.14879-14901, 2014.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas**. 2. ed. Londrina, 2006. 401p.

FERREIRA, C.A.; FERREIRA, R.L.C.; SANTOS, D.C. dos.; SANTOS, M.V.F. dos.; SILVA, J.A.A da.; LIRA, M. de. A.; MOLICA, S.G. Utilização de Técnicas Multivariadas na Avaliação da Divergência Genética entre Clones de Palma Forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1560-1568, 2003.

GUEVARA-FIGUEROA, T.; JIMÉNEZ-ISLAS, H.; REYES-ESCOGIDO, M.; MORTENSEN, A.G.; LAURSEN, B.B.; LIN, L-W.; LEÓN-RODRÍGUEZ, A. de.; FOMSGAARD, I.S.; ROSA, A.P.B. de L. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.525-532, 2010.

GULCIN, I.; SAT, I.G.; BEYDEMIR, S.; ELMASTAS, M.E.; KUFREVIOGLU, O.I. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). **Food Chemistry**, v.87, p.393-400, 2004.

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. 2015. Dados climáticos da Estação de Arcoverde: série histórica de 1961 a 2014. Banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>> Acesso em: 24 agosto de 2015.

LEMOS, A.R. **Caracterização físico-química, bioquímica e avaliação da atividade antioxidante em genótipos de Urucueiros (*Bixa orellana* L.)**. 2008. 65p. Dissertação

(Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MESSIAS, A.S.; GOMES, E.W.F.; SANTANA, F.C.T. de. Laboratório de análise de água, planta e ração - Análise de planta e ração. *In*: FIGUEIREDO, M. do. V.B. *et al.* **Manual de práticas laboratoriais: Um guia para pesquisa**. 1. ed. Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), 2013. cap. 17, p. 327-346.

MONDRAGÓN-JACOBO, C.; PÉREZ-GONZÁLEZ, S. **Cactus (*Opuntia* spp.) as forage**. Plant Production and Protection Paper da FAO, 169. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2001. 146p.

NAZARENO, M.A. Cactus como fuente de sustancias promotoras de la salud. **Cactusnet Newsletter**, v.13, ed. esp., p.96-106, 2013.

PAIXÃO, S.L. **Avaliação morfológica de clones e progênies de palma forrageira**. 2012. 70 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PEREIRA, A.V.; ALMEIDA, T.C. de.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; GARRIDO, L.H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v.31, n.2, p.119-124, 2009.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.6, n.11, p.1720–1731, 2011.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley & Sons, 1952. 390p.

RÊGO, E.R. do.; RÊGO, M.M. do.; CRUZ, C.D.; FINGER, F.L.; CASALI, V.W.D. Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.58, n.6, p.909-918, 2011.

RODZIEWICZ, P.; SWARCEWICZ, B.; CHMIELEWSKA, K.; WOJAKOWSKA, A.; STOBIECKI, M. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.1, p.1-19, 2014.

SANTOS, R.I. dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. *In*: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editoras da UFRGS/UFSC, 2010. cap. 16, p. 403-466.

SANTOS-ZEA, L.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDIVAR, S.O. Comparative Analyses of Total Phenols, Antioxidant Activity, and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia* spp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.7054-7061, 2011.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SILVA, J.A.G. da.; SCHWERTNER, D.V.; CARBONERA, R.; KRUGUER, C.A.M.B.; CRESTANI, M.; GAVIRAGHI, F.; SCHIAVO, J.; ARENHARDT, E.G. Distância genética em genótipos de girassol. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.17, n.3-4, p.326-337, 2011.

SILVA, F.A.S.E.; AZEVEDO, C.A.V. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. *In*: World Congress on Computers in Agriculture, 4, Orlando-FL-USA: **Anais**. Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2006. p.393-396.

SILVA, J.A. da.; BONOMO, P.; DONATO, S.L.R.; PIRES, A.J.V.; ROSA, R.C.C.; DONATO, P.E.R. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e

adubações química. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, suplemento, p.866-875, 2012.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.41, n.2, p.237-245, 1981.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

VIANA, J.P.G. **Diversidade genética em alho (*Allium sativum* L.)**. 2013. 56 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Teresina.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonoides. *In*: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editoras da UFRGS/UFSC, 2010. cap. 23, p. 577-614.

CAPÍTULO IV

Variabilidade química e nutricional de cladódios de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*

**Variabilidade química e nutricional de cladódios de palma forrageira dos gêneros
Opuntia e *Nopalea***

Resumo – Os estudos têm revelado que os cladódios de palma possuem diversos compostos químicos que podem ser considerados fitoterápicos naturais e que conferem valor agregado adicional a seus produtos. Muitos fatores afetam a composição química das plantas, condições edafoclimáticas, idade da planta, variedades, espécies, etc. Os objetivos deste estudo foram caracterizar a variabilidade química e nutricional por ordem de cladódio de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. O estudo foi conduzido na estação experimental do IPA em Arcoverde-PE, utilizando delineamento em bloco ao acaso, com três repetições. Os materiais IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205 e IPA-200149 foram avaliados quanto à composição bromatológica e de minerais por ordem dos cladódios. Os dados coletados foram analisados pela análise de variância pelo teste F, e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os conteúdos dos nutrientes variaram MS (5,60 a 7,57%), PT (5,03 a 9,13% MS), EE (0,78 a 1,99% MS), FB (6,03 a 14,43% MS), ENN (30,48 a 79,33% MS), MM (7,62 a 13,05% MS), N (8,00 a 14,60 g.kg⁻¹ MS), P (1,92 a 4,56 g.kg⁻¹ MS), K (4,65 a 42,00 g.kg⁻¹ MS), Ca (21,46 a 62,75 g.kg⁻¹ MS), Mg (9,95 a 22,02 g.kg⁻¹ MS), Na (1,40 a 2,90 g.kg⁻¹ MS), S (36,67 a 1.315,59 mg.kg⁻¹ MS), Fe (59,38 a 208,21 mg.kg⁻¹ MS), Cu (9,01 a 39,65 mg.kg⁻¹ MS), Zn (19,19 a 81,14 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (102,50 a 704,57 mg.kg⁻¹ MS). As variedades de palma apresentam variabilidade genética no conteúdo químico e nutricional, tanto entre genótipos quanto na ordem dos cladódios dentro do genótipo. O conteúdo de proteínas e nutrientes (N, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Zn e Mn) tendem a ser maiores nos cladódios mais jovens. O teor de extrato etéreo, extrato não nitrogenado, fibra bruta, fósforo e sódio tendem a ser maiores nos cladódios maduros.

Termos para indexação: análise de alimento, cactácea, caracterização de forrageiras, semiárido brasileiro

Variability chemical and nutritional of cactus pear cladodes of genres

Opuntia and Nopalea

Abstract – The studies have revealed that the cladodes of cactus pear have several chemical compounds that can be considered phytotherapycs natural and provide additional value to their products. Many factors affect the chemical composition of plants, soil and weather conditions, plant age, varieties, species, etc. The objectives of this study were to characterize the chemical and nutritional variability per order of cladode of seven varieties of cactus pear of the genres *Opuntia* and *Nopalea*. The study was conducted at the experimental station of IPA in Arcoverde-PE, using design block at random, with three replications. The materials IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205 and IPA-200149 were evaluated for their bromatological and mineral composition per order of cladodes. The collected data were analyzed by analysis of variance by F test and the averages grouped by the Scott-Knott test ($p < 0.05$). The content of nutrients varied (DM) (5.60 to 7.57%), (TP) (5.03 to 9.13% DM), (EE) (0.78 to 1.99% DM), (CF) (6.03 to 14.43% DM), (NFE) (30.48 to 79.33% DM), (MM) (7.62 to 13.05% DM), (N) (8.00 to 14.60 g.kg⁻¹ DM), (P) (1.92 to 4.56 g.kg⁻¹ DM), (K) (4.65 to 42.00 g.kg⁻¹ DM), (Ca) (21.46 to 62.75 g.kg⁻¹ DM), (Mg) (9.95 to 22.02 g.kg⁻¹ DM), (Na) (1.40 to 2.90 g.kg⁻¹ DM), (S) (36.67 to 1,315.59 mg.kg⁻¹ DM), (Fe) (59.38 to 208.21 mg.kg⁻¹ DM), (Cu) (9.01 to 39,65 mg.kg⁻¹ DM), (Zn) (19.19 to 81.14 mg.kg⁻¹ DM) and (Mn) (102.50 to 704.57 mg.kg⁻¹ DM). The varieties of cactus pear feature genetic variability in the chemical and nutritional content, both among genotypes how much between the order of cladodes within the genotype. The content of proteins and nutrients (N, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Zn and Mn) tend to be higher in younger cladodes. The ether extract, nitrogen free extract, crude fiber, phosphorus and sodium tend to be higher in mature cladodes.

Index terms: Brazilian semiarid, cactaceous, characterization of forage, food analysis

4.1 Introdução

As regiões climaticamente definidas como áridas e semiáridas representam aproximadamente 48 milhões de km², distribuídas em 2/3 dos países do mundo. Essas regiões são caracterizadas pela baixa umidade e pouco volume pluviométrico. De acordo com a precipitação anual as zonas áridas são classificadas em: árido extremo (60-100 mm), árido (150-250 mm) e semiárido (250-500 mm). Além disso, essas regiões são reconhecidas pela alta variabilidade das chuvas que são infrequentes, discretas, imprevisíveis e aleatórias (NOYMEIR, 1973; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

No Brasil, a faixa territorial considerada como semiárida abrange uma área de aproximadamente 969.589,4 km², que representa 11,39% do território nacional e estão incluídos os estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e norte de Minas Gerais (MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO, 2005). Essa região é caracterizada por apresentar alto índice de evaporação anual, superior a 2.000 mm, e média anual de chuvas inferior a 750 mm, concentrada em um único período de 3 a 5 meses, além disso, muitas áreas da região estão salinizadas (>4,0 dS/m). Essas condições impõem certas limitações à produção vegetal e animal, com reflexo na economia regional e na qualidade de vida dos habitantes (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

Uma das principais atividades desenvolvidas na região semiárida do Brasil é a pecuária, com destaque para a criação de bovinos, caprinos e ovinos. Estima-se que em números absolutos as populações desses animais nessa região estejam na ordem de 29.350.651, 10.126.799 e 8.109.672 cabeças, valores esses que representam 13,82, 57,49 e 91,62% do rebanho nacional, respectivamente (IBGE-SIDRA, 2015). No geral, esses rebanhos são criados extensivamente, alimentando-se exclusivamente da vegetação nativa. Pelas características sazonais das plantas, pelas condições adversas de clima e solo, e principalmente, por parte da vegetação nativa ser de plantas não forrageiras, apresentam baixa capacidade de suporte, e conseqüentemente a atividade pecuária também apresenta baixos índices de produtividade. Dessa maneira, é necessário encontrar alternativas sustentáveis de produção vegetal, que permitam a fixação do homem no campo, garantindo-lhe renda e qualidade de vida (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

Uma importante alternativa de produção vegetal para a região semiárida do Brasil, é o cultivo de plantas do gênero *Opuntia* e *Nopalea*, pois, essas plantas possuem características anatômicas, fisiológicas, e químicas que permitem seu crescimento e desenvolvimento em áreas sujeitas à déficit hídrico. Possibilitando, assim, a obtenção de alimento humano e animal, além,

da geração de renda a população que vive nessas áreas. Uma vez que, essas plantas são utilizadas para diversos fins, produção de frutas e verduras para consumo humano; forragem para alimentação animal; conservação do solo; biomassa para fins energéticos (biogás e etanol); produção de cochonilha para produção de carmim; e inúmeros subprodutos, como bebidas, queijo vegetariano, remédios e cosméticos (DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2013).

Os estudos têm revelado que os cladódios de palma possuem diversos compostos químicos que podem ser considerados fitoterápicos naturais e que conferem um valor agregado adicional a seus produtos. Neles são encontrados componentes como fibra, hidrocolóides, pigmentos, minerais e vitaminas (NAZARENO, 2013), por proporcionar produtos e alimentos que se constituem como importante fonte de nutrientes para humanos e animais. O reconhecimento do valor nutritivo de cladódios de palma como alimento estratégico para a segurança alimentar e nutricional, assim como forragem nutritiva para agregação de valor aos produtos de origem animal é de suma importância para certificação de produtos saudáveis.

Muitos fatores afetam a composição química dos cladódios, entre eles condições edafoclimáticas, idade da planta, época do ano, variedades, espécies, etc. Poucos estudos são concentrados na diferença entre as ordens do cladódio entre variedades cultivadas.

Assim, os objetivos deste estudo foram caracterizar a variabilidade química e nutricional por ordem de cladódio de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Local do experimento

O trabalho foi realizado na Estação Experimental de Arcoverde, pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado no município de Arcoverde-PE (8°25' S; 37°05' W), altitude 680,70 m, temperatura média anual $22,90 \pm 1,68$ °C, Umidade Relativa do ar média anual $69,60 \pm 5,30\%$, velocidade do vento média anual $3,92 \pm 0,48$ m/s, evaporação acumulada média 1.700,40 mm, precipitação acumulada média anual 798,1 mm, microrregião do sertão do Moxotó (INMET, 2015).

4.2.2 Material vegetal e condução do experimento

Os materiais utilizados estão listados na Tabela 4.1. Os cladódios dos clones foram plantados nos dias 22 e 23 de abril de 2010, espaçados 1,0 x 0,5 m; utilizando-se de um cladódio por cova. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com três repetições. Cada bloco foi composto por três fileiras plantadas com oito plantas de cada variedade. A parcela

experimental foi composta pela fileira do meio, sendo úteis seis plantas, 3,0 m² de área útil. O solo foi adubado 30 dias após o plantio, com 20 t.ha⁻¹ de esterco bovino, distribuídos entre as linhas. Periodicamente foram realizados tratos culturais, na forma de capina com enxada, em toda a área cultivada.

As coletas dos materiais (cladódios) foram realizadas, às 8:00 horas da manhã no dia 24 de janeiro de 2014 (período seco). Após as coletas, o material foi limpo, cortado em pequenos pedaços (2 a 3 cm de comprimento) e secos em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, onde permaneceu por 72 horas, até peso constante, onde se obteve a massa seca ao ar (ASA). O material seco foi triturado em moinho tipo Willey® e acondicionados em potes plásticos vedados para as determinações químicas e nutricionais.

Tabela 4.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil

Nº	Variedades	Espécie	Nome vulgar
1	IPA-100003	<i>Opuntia ficus indica</i>	IPA-20
2	IPA-200016	<i>Opuntia stricta</i>	Orelha de Elefante Mexicana
3	IPA-200008	<i>Opuntia atropes</i>	F-08
4	IPA-100004	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Miúda
5	IPA-200021	<i>Nopalea cochenillifera</i>	F-21
6	IPA-200205	<i>Nopalea cochenillifera</i>	IPA-Sertânia
7	IPA-200149	<i>Opuntia larreri</i>	-

4.2.3 Determinação de características químicas e nutricionais

Foram determinados os conteúdos de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na), enxofre (S), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn), matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PT), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB) e extrato não nitrogenado (EEN).

O N, P, K, Ca, Mg, Na, S, Fe, Cu, Zn e Mn foram determinados de acordo com Malavolta *et al.* (1997), e os resultados foram expressos g.kg⁻¹ ou mg.kg⁻¹. A MS, MM, PT, EE, FB e EEN foram determinados como Messias *et al.* (2013), e os resultados foram expressos em % na MS.

4.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados inicialmente pela análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974), em nível de 5% de probabilidade. As

análises dos dados foram realizadas com o auxílio do programa estatístico Assistat® 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2006).

4.3 Resultados e Discussão

Os resultados da composição química e bromatológica por ordem dos cladódios das variedades estudadas encontram-se nas Tabelas 4.2 a 4.8. Não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste de Scott & Knott entre a ordem dos cladódios das variedades para o conteúdo de matéria seca (MS) (IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200149), proteína total (PT) (IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200149), extrato etéreo (EE) (IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205), fibra bruta (FB) (IPA-100003, IPA-200008, IPA-200021, IPA-200205), extrato não nitrogenado (ENN) (IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200205), material mineral (MM) (IPA-100003, IPA-200016, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200149), nitrogênio (N) (IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200149), fósforo (P) (IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200149), potássio (K) (IPA-100003, IPA-200021), cálcio (Ca) (IPA-100003, IPA-200016, IPA-100004, IPA-200205, IPA-200149), magnésio (Mg) (IPA-100003, IPA-200016, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200149), sódio (Na) (IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200149), enxofre (S) (IPA-100003), ferro (Fe) (IPA-200016, IPA-200205), cobre (Cu) (IPA-200021), zinco (Zn) (IPA-200016, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200149) e manganês (Mn) (IPA-100004, IPA-200149).

Na variedade IPA-100003 observam-se diferenças entre a ordem dos cladódios para o conteúdo de PT (6,02 a 8,35% MS), EE (1,27 a 1,79% MS), N (9,63 a 13,35 g.kg⁻¹ MS), Fe (71,99 a 170,84 mg.kg⁻¹ MS), Cu (18,33 a 28,99 mg.kg⁻¹ MS), Zn (27,38 a 52,65 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (231,49 a 375,99 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.2).

Na variedade IPA-200016 foram observadas divergências entre a ordem dos cladódios para o conteúdo FB (7,85 a 9,54% MS), N (12,05 a 14,60 g.kg⁻¹ MS), K (5,35 a 15,00 g.kg⁻¹ MS), S (36,68 a 423,53 mg.kg⁻¹ MS), Cu (30,24 a 35,85 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (228,56 a 512,53 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.3).

Na variedade IPA-200008 diferenças entre a ordem dos cladódios foram notadas para MM (7,86 a 13,05% MS), K (12,00 a 33,90 g.kg⁻¹ MS), Ca (40,43 a 62,75 g.kg⁻¹ MS), Mg (9,95 a 22,02 g.kg⁻¹ MS), S (399,93 a 1.315,59 mg.kg⁻¹ MS), Fe (59,38 a 197,99 mg.kg⁻¹ MS), Cu

(22,66 a 39,65 mg.kg⁻¹ MS), Zn (34,70 a 81,14 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (102,50 a 537,40 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.4).

Na variedade IPA-100004 verifica-se diferença entre a ordem dos cladódios para FB (6,62 a 12,43% MS), K (10,65 a 42,00 g.kg⁻¹ MS), Mg (12,51 a 19,94 g.kg⁻¹ MS), S (91,23 a 510,48 mg.kg⁻¹ MS), Fe (66,25 a 168,77 mg.kg⁻¹ MS) e Cu (13,18 a 35,56 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.5).

Na variedade IPA-200021 disparidade entre os cladódios foi encontrada para ENN (30,48 a 73,91% MS), Ca (21,46 a 51,28 g.kg⁻¹ MS), S (73,68 a 1.298,10 mg.kg⁻¹ MS), Fe (100,40 a 201,61 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (128,62 a 618,17 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.6).

Na variedade IPA-200205 foram registradas diversidade entre os cladódios para MS (6,28 a 7,51%), K (4,65 a 33,65 g.kg⁻¹ MS), S (36,68 a 185,59 mg.kg⁻¹ MS), Cu (19,87 a 31,98 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (205,19 a 704,57 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.7).

Na variedade IPA-200149 foram notadas diferenças entre os cladódios para EE (1,04 a 1,61% MS), FB (6,03 a 8,37% MS), ENN (74,34 a 79,33% MS), K (7,35 a 24,10 g.kg⁻¹ MS), S (490,75 a 957,49 mg.kg⁻¹ MS), Fe (89,07 a 120,47 mg.kg⁻¹ MS) e Cu (9,01 a 33,59 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.8).

O conteúdo de proteínas, material mineral (nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, zinco e manganês) tem uma tendência a serem maiores nos cladódios mais jovens, em fase de desenvolvimento. O teor de extrato etéreo, extrato não nitrogenado, fibra bruta, fósforo e sódio tendem a ser menores nos cladódios mais jovens. Entretanto, os conteúdos dos nutrientes analisados não apresentam um padrão de acúmulo definido entre as ordens dos cladódios entre as variedades.

Contreras-Padilla *et al.* (2011), Hernández-Urbiola *et al.* (2011), Ribeiro *et al.* (2010) e Rodríguez-García *et al.* (2007) estudando a composição química de cladódios de palma (*Opuntia ficus indica*), relatam aumento no conteúdo de carboidratos totais, proteínas, fibra bruta e material mineral (P, Ca e Fe) com a idade dos cladódios. No entanto, os pesquisadores mencionam reduções no conteúdo de gorduras totais com a idade dos cladódios. Sáenz (2006) relata que o conteúdo de proteínas e cinzas são maiores nos cladódios mais jovens, e que o conteúdo de fibras e gordura são menores nesses cladódios, corroborando com nossos resultados.

O resultado para os minerais e extrato não nitrogenado era esperado tendo em vista que o excesso de nutrientes e fotossintatos (produtos da fotossíntese) são translocados das áreas de

absorção ou produção (tecidos maduros) para áreas de crescimento com metabolismo ativo (tecidos jovens) ou de armazenamento (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os materiais minerais N, P, K, Mg, S, Fe, Cu, Zn e Mn são encontrados em todos os tecidos da planta, inclusive no floema, e podem ser redistribuídos dos tecidos mais velhos para os tecidos mais jovens (EPSTEIN; BLOOM, 2006; LIMA *et al.*, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013). Entretanto, o Ca, S e Fe tendem a se concentrar em tecidos mais velhos, por causa da sua baixa mobilidade no floema, e por fazerem parte na estrutura de várias moléculas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A redistribuição (mobilidade ou remobilização) dos nutrientes minerais ou fotossintatos dos tecidos maduros para as áreas em crescimento ou armazenamento é essencial para o ciclo de vida do vegetal. A dinâmica dos nutrientes nas plantas varia em função da espécie, da idade da planta, do estágio fenológico do órgão, das condições edafoclimáticas, práticas de manejo adotado, etc. Ao longo do ciclo de vida o conteúdo de alguns nutrientes na parte aérea aumenta enquanto a de outros diminuem, ocorrendo translocação de elementos de órgãos senescentes para regiões de crescimento das plantas, como tecidos jovens e estruturas reprodutivas (EPSTEIN; BLOOM, 2006; LIMA *et al.*, 2011). Por isso, a grande variação na concentração de alguns nutrientes entre as ordens dos cladódios das variedades de palma forrageira.

A fibra bruta dos vegetais é constituída, principalmente, por celulose, hemicelulose e lignina, componentes encontrados em altas concentrações na parede celular dos vegetais (MESSIAS *et al.*, 2013). Por isso seu baixo valor nos tecidos jovens em comparação aos totalmente maduros.

Os cladódios mais velhos dispõem de superfícies assimiladoras de CO₂ superiores aos cladódios em desenvolvimento, e são responsáveis pela maior produção de fotossintatos e distribuição de nutrientes e água para os demais órgãos (QUEIROZ *et al.*, 2015). O conteúdo de sódio e fósforo, provavelmente, tende a ser maior nesses cladódios tendo em vista serem esses nutrientes importantes nos processos fotossintéticos das plantas CAM (Metabolismo do Ácido das Crassuláceas). O primeiro por atuar na recomposição da fosfoenolpiruvato, e o segundo por participar no transporte e transdução de energia química (ATP e NADPH) (EPSTEIN; BLOOM, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013). Mesmo o Na⁺ sendo um elemento essencial para a palma forrageira, o excesso desse íon é prejudicial ao seu crescimento e desenvolvimento (CONY *et al.*, 2006; YADAV *et al.*, 2013). Assim, as plantas tendem a reter esse íon em tecidos mais velhos, evitando a sua translocação para tecidos jovens, mais sensíveis ao estresse salino (ALVES *et al.*, 2008; 2015).

O extrato etéreo ou gordura bruta é constituído, principalmente, por lipídeos, ácidos orgânicos, álcool e pigmentos. O extrato não nitrogenado é constituído por amido e açúcares. Essas duas classes de nutrientes constituem as substâncias de reserva de energia e carbono que as plantas utilizam para realizar seus processos bioquímicos e fisiológicos. Além disso, tanto os lipídeos, quanto o amido, são transformados em sacarose que é transportada pelo floema para os tecidos heterotrópicos de dreno (tecidos em crescimento ou de armazenamento) (TAIZ; ZEIGER, 2013).

O acúmulo de carboidratos e lipídeos em tecidos maduros é uma adaptação da palma forrageira para a sobrevivência em ambientes onde a disponibilidade de água é fator limitante ao crescimento e desenvolvimento vegetal. As plantas utilizam esses nutrientes como fonte de energia para serem utilizados em períodos de estresse hídrico ou salino. Além disso, o acúmulo de carboidratos (sacarose, hexoses e álcoois polihídricos) atua como osmoprotetores durante déficit hídrico, reduzindo os efeitos prejudiciais do estresse osmótico, ajudando na manutenção do turgor, estabilização de membranas celulares e proteção contra a degradação celular ocasionado por espécies reativas de oxigênio (EROs) (RODZIEWICZ *et al.*, 2014).

Analisando-se o acúmulo dos nutrientes entre as variedades de palma no segundo e terceiro cladódio observa-se variação nos resultados quanto à ordem do cladódio analisado. Quando o cladódio de segunda ordem foi analisado não foram encontradas diferenças significativas entre as variedades para MS, PT, EE, FB, ENN, MM, N e Mg. No entanto, diferenças entre os genótipos foram observadas para P (2,24 a 4,56 g.kg⁻¹ MS), K (4,65 a 32,75 g.kg⁻¹ MS), Ca (25,72 a 51,28 g.kg⁻¹ MS), Na (1,50 a 2,90 g.kg⁻¹ MS), S (36,67 a 1.315,59 mg.kg⁻¹ MS), Fe (59,38 a 196,44 mg.kg⁻¹ MS), Cu (13,18 a 33,15 mg.kg⁻¹ MS), Zn (19,19 a 68,52 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (102,50 a 704,57 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.9).

Quando o cladódio de terceira ordem foi estudado não se observa diferenças significativas entre os genótipos para PT, EE, FB, ENN, MM, N, P, Ca, Mg e Na. Entretanto, diferenças expressivas entre os genótipos foram observadas para MS (5,97 a 7,57%), K (10,70 a 33,90 g.kg⁻¹ MS), S (185,59 a 735,89 mg.kg⁻¹ MS), Fe (71,99 a 208,21 mg.kg⁻¹ MS), Cu (14,70 a 35,85 mg.kg⁻¹ MS), Zn (22,09 a 57,33 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (139,47 a 540,45 mg.kg⁻¹ MS) (Tabela 4.10).

Os resultados realçam diferenças no conteúdo químico e nutricional entre variedades e ordem do cladódio analisado dentro de cada genótipo. Os conteúdos dos nutrientes variaram MS (5,60 a 7,57%), PT (5,03 a 9,13% MS), EE (0,78 a 1,99% MS), FB (6,03 a 14,43% MS), ENN (30,48 a 79,33% MS), MM (7,62 a 13,05% MS), N (8,00 a 14,60 g.kg⁻¹ MS), P (1,92 a 4,56

g.kg⁻¹ MS), K (4,65 a 42,00 g.kg⁻¹ MS), Ca (21,46 a 62,75 g.kg⁻¹ MS), Mg (9,95 a 22,02 g.kg⁻¹ MS), Na (1,40 a 2,90 g.kg⁻¹ MS), S (36,67 a 1.315,59 mg.kg⁻¹ MS), Fe (59,38 a 208,21 mg.kg⁻¹ MS), CU (9,01 a 39,65 mg.kg⁻¹ MS), Zn (19,19 a 81,14 mg.kg⁻¹ MS) e Mn (102,50 a 704,57 mg.kg⁻¹ MS). Esses valores estão de acordo com os relatados na literatura para palma forrageira, com exceção do S onde seu valor foi descrito para variar de 1.500 a 5.100 mg.kg⁻¹ MS (BATISTA *et al.*, 2003; BENSADÓN *et al.*, 2010; CHAHDOURA *et al.*, 2015; DUBEUX-JÚNIOR *et al.*, 2010; GUEVARA-FIGUEROA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012).

Os componentes químicos das plantas têm uma ampla variação, tanto na composição quanto no conteúdo, e variam entre espécies e dentro da mesma espécie. Os fatores que contribuem para essa diferença no gênero *Opuntia* e *Nopalea* são os fatores genéticos, condições ambientais de crescimento, solos, tratos culturais, período de coleta, estresses, idade das plantas, ordem do cladódio analisado, tecidos analisados, forma de coleta do material, temperatura de secagem do cladódio, métodos de extração e diferenças nas metodologias utilizadas nas determinações (BARI *et al.*, 2012; HERNÁNDEZ-URBIOLA *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2010; SANTOS-ZEA *et al.*, 2011).

Os cladódios de palma forrageira apresentam uma alta qualidade em termos de suas propriedades nutricionais e funcionais. Assim, os resultados deste trabalho podem ajudar em futuros programas de melhoramento de palma para características nutricionais e nutracêuticas. Além disso, este estudo contribui significativamente como material de referência para certificação da qualidade da forragem para animais; e alimentos e produtos de palma para consumo humano. Pois, a adição de cladódios de palma como ingrediente para alimentos funcionais, teria benefícios econômicos e na saúde das populações residentes nas regiões áridas e semiáridas. Estudos adicionais precisam ser feitos para identificar e quantificar os compostos químicos presentes nas variedades em diversos períodos do ano.

Tabela 4.2. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira e quarta ordem da variedade de palma forrageira IPA-100003

Ordem do cladódio	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS						g.kg ⁻¹ MS	
Segundo	93,95 a	6,02 b	1,79 a	10,97 a	72,95 a	8,27 a	9,63 b	3,09 a	19,30 a
Terceiro	93,82 a	6,81 b	1,82 a	9,84 a	71,09 a	10,44 a	10,87 b	2,81 a	13,25 a
Quarto	92,75 a	8,35 a	1,27 b	9,11 a	68,59 a	12,69 a	13,35 a	2,59 a	25,75 a
Média	93,51	7,06	1,63	9,97	70,87	10,47	11,28	2,83	19,43
C.V (%)	0,88	11,88	11,63	22,69	5,19	14,91	12,01	7,09	30,79
Ordem do cladódio	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS			mg.kg ⁻¹ MS				
Segundo	93,95 a	29,69 a	13,80 a	2,90 a	73,00 a	79,10 b	21,54 b	52,65 a	375,99 b
Terceiro	93,82 a	33,12 a	15,06 a	2,27 a	401,91 a	71,99 b	28,99 a	46,86 a	540,45 a
Quarto	92,75 a	31,42 a	17,36 a	2,55 a	277,32 a	170,84 a	18,33 b	27,38 b	231,49 b
Média	93,51	31,41	15,41	2,57	250,74	107,31	22,95	42,29	382,64
C.V (%)	0,88	9,33	12,69	41,36	59,17	11,58	13,74	22,77	24,07

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.3. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda e terceira ordem da variedade de palma forrageira IPA-200016

Ordem do cladódio	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS							g.kg ⁻¹ MS
Segundo	93,60 a	6,60 a	1,31 a	9,54 a	72,97 a	9,57 a	12,05 b	2,28 a	5,35 b
Terceiro	92,43 a	9,13 a	1,15 a	7,85 b	72,83 a	9,04 a	14,60 a	2,38 a	15,00 a
Média	93,02	7,87	1,23	8,69	72,90	9,31	13,32	2,33	10,18
C.V (%)	1,02	16,84	28,14	8,24	1,88	11,07	7,84	24,94	30,66
Ordem do cladódio	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS				mg.kg ⁻¹ MS			
Segundo	93,60 a	41,64 a	13,61 a	1,50 a	36,68 b	72,85 a	30,24 b	19,19 a	228,56 b
Terceiro	92,43 a	38,51 a	13,49 a	1,63 a	423,53 a	139,64 a	35,85 a	22,09 a	512,53 a
Média	93,02	40,07	13,55	1,57	230,10	106,25	33,04	20,64	370,55
C.V (%)	1,02	17,00	7,78	40,70	38,62	31,54	6,73	27,08	7,78

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.4. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira, quarta, quinta e sexta ordem da variedade de palma forrageira IPA-200008

Ordem do cladódio	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS							g.kg ⁻¹ MS
Segundo	93,80 a	7,72 a	1,10 a	14,43 a	68,90 a	7,86 c	12,33 a	2,27 a	14,20 d
Terceiro	94,03 a	6,84 a	1,00 a	10,76 a	69,99 a	11,40 b	10,97 a	2,41 a	33,90 a
Quarto	93,81 a	6,45 a	1,11 a	11,46 a	69,82 a	11,15 b	10,30 a	2,77 a	26,60 b
Quinto	93,79 a	6,81 a	1,07 a	8,85 a	71,22 a	12,04 b	10,90 a	2,77 a	21,30 c
Sexto	93,54 a	7,82 a	0,78 a	9,53 a	68,83 a	13,05 a	12,50 a	2,78 a	12,00 d
Média	93,80	7,13	1,01	11,00	69,75	11,10	11,40	2,60	21,60
C.V (%)	0,39	12,60	20,58	33,39	4,71	5,70	12,70	13,75	12,70
Ordem do cladódio	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS							mg.kg ⁻¹ MS
Segundo	93,80 a	40,43 c	9,95 b	2,90 a	1.315,59 a	59,38 d	33,15 b	34,70 c	102,50 e
Terceiro	94,03 a	51,20 b	17,47 a	2,73 a	399,93 c	79,39 c	14,70 d	57,33 b	139,47 d
Quarto	93,81 a	61,51 a	18,65 a	2,10 a	219,48 c	104,14 b	39,65 a	55,96 b	258,39 c
Quinto	93,79 a	60,24 a	20,04 a	1,70 a	731,81 b	95,42 b	36,68 a	81,14 a	297,78 b
Sexto	93,54 a	62,75 a	22,02 a	2,70 a	1.247,46 a	197,99 a	22,66 c	62,75 b	537,40 a
Média	93,80 a	55,23	17,63	2,43	782,85	107,26	29,37	58,38	267,11
C.V (%)	0,39 a	6,16	9,00	24,05	23,76	7,73	7,88	16,72	5,90

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.5. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira, quarta e quinta ordem da variedade de palma forrageira IPA-100004

Ordem do cladódio	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS							g.kg ⁻¹ MS
Segundo	94,08 a	6,47 a	1,46 a	12,43 a	71,69 a	7,96 a	10,37 a	3,16 a	10,65 c
Terceiro	93,86 a	6,49 a	1,51 a	7,85 b	74,26 a	9,88 a	10,40 a	2,73 a	20,05 b
Quarto	93,73 a	6,79 a	1,23 a	6,90 b	74,90 a	10,19 a	10,87 a	1,92 a	17,95 b
Quinto	93,03 a	6,96 a	1,11 a	6,62 b	74,58 a	10,72 a	11,17 a	2,30 a	42,00 a
Média	93,67	6,68	1,33	8,45	73,86	9,69	10,70	2,53	22,66
C.V (%)	0,84	27,01	18,23	14,02	2,16	11,74	26,99	34,62	17,98
Ordem do cladódio	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS				mg.kg ⁻¹ MS			
Segundo	94,08 a	31,38 a	12,51 b	1,73 a	279,45 b	66,25 b	13,18 b	25,56 a	356,28 a
Terceiro	93,86 a	46,62 a	15,77 b	1,60 a	510,48 a	98,36 b	35,56 a	33,56 a	377,29 a
Quarto	93,73 a	49,74 a	17,99 a	2,07 a	54,92 c	134,34 a	17,93 b	37,87 a	381,48 a
Quinto	93,03 a	44,65 a	19,94 a	2,27 a	91,23 c	168,77 a	28,51 a	31,98 a	359,87 a
Média	93,67	43,10	16,55	1,92	234,02	116,93	23,80	32,24	368,73
C.V (%)	0,84	31,15	10,86	26,35	31,74	24,39	27,67	31,09	18,26

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.6. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira, quarta, quinta, sexta e sétima ordem da variedade de palma forrageira IPA-200021

Ordem do cladódio	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS							g.kg ⁻¹ MS
Segundo	93,45 a	6,29 a	1,64 a	13,71 a	69,21 a	9,16 a	10,07 a	4,56 a	32,75 a
Terceiro	92,76 a	5,88 a	1,33 a	10,21 a	73,02 a	9,56 a	11,20 a	2,88 a	22,10 a
Quarto	94,40 a	6,64 a	1,82 a	9,22 a	71,84 a	10,49 a	10,60 a	4,04 a	20,55 a
Quinto	94,15 a	6,51 a	1,59 a	7,99 a	73,91 a	10,02 a	10,40 a	2,71 a	18,60 a
Sexto	93,82 a	7,40 a	1,99 a	7,51 a	50,01 b	11,93 a	11,85 a	2,55 a	24,70 a
Sétimo	93,62 a	8,14 a	1,33 a	6,40 a	30,48 c	10,93 a	13,00 a	2,67 a	18,70 a
Média	93,70	6,81	1,62	9,17	61,41	10,35	11,19	3,24	22,90
C.V (%)	0,86	18,05	15,17	33,52	16,11	13,29	13,58	35,87	38,23
Ordem do cladódio	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS			mg.kg ⁻¹ MS				
Segundo	93,45 a	51,28 a	14,75 a	1,90 a	73,68 d	169,02 a	26,93 a	26,64 a	128,62 b
Terceiro	92,76 a	21,46 b	13,28 a	1,67 a	246,49 d	201,61 a	29,82 a	29,25 a	212,76 b
Quarto	94,40 a	38,36 a	14,35 a	1,50 a	542,86 c	200,14 a	24,75 a	36,39 a	281,58 b
Quinto	94,15 a	42,52 a	15,88 a	2,65 a	893,40 b	113,81 b	25,01 a	32,43 a	313,07 b
Sexto	93,82 a	45,57 a	14,81 a	2,40 a	1.298,10 a	122,65 b	27,95 a	34,36 a	618,17 a
Sétimo	93,62 a	44,22 a	14,74 a	2,00 a	1.246,37 a	100,40 b	15,38 a	32,58 a	378,75 b
Média	93,70	40,57	14,64	2,02	716,82	151,27	24,97	31,94	322,16
C.V (%)	0,86	17,26	11,85	30,63	27,70	27,66	32,65	19,81	36,34

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.7. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda e terceira ordem da variedade de palma forrageira IPA-200205

Ordem do cladódio	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	g.kg ⁻¹ MS							
Segundo	93,72 a	6,09 a	1,09 a	7,15 a	78,05 a	7,62 a	9,73 a	2,24 a	4,65 b
Terceiro	92,49 b	6,07 a	1,20 a	7,59 a	76,70 a	8,44 a	9,70 a	2,05 a	33,65 a
Média	93,11	6,08	1,15	7,37	77,38	8,03	9,72	2,15	19,15
C.V (%)	0,49	21,28	22,65	22,05	4,93	18,09	21,27	20,81	30,58
Ordem do cladódio	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS				mg.kg ⁻¹ MS			
Segundo	93,72 a	29,70 a	13,55 a	2,05 a	36,68 b	196,44 a	19,87 b	40,31 a	704,57 a
Terceiro	92,49 b	32,58 a	17,22 a	1,50 a	185,59 a	208,21 a	31,98 a	34,22 a	205,19 b
Média	93,11	31,14	15,39	1,78	111,14	202,32	25,92	37,27	454,88
C.V (%)	0,49	37,62	12,53	41,64	41,02	44,01	11,44	44,94	6,94

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.8. Composição química e bromatológica dos cladódios de segunda, terceira e quarta ordem da variedade de palma forrageira IPA-200149

Ordem do cladódio	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS						g.kg ⁻¹ MS	
Segundo	93,02 a	7,03 a	1,61 a	8,37 a	74,38 b	8,60 a	11,27 a	2,69 a	7,35 c
Terceiro	92,70 a	6,98 a	1,20 b	7,29 b	74,34 b	10,19 a	11,20 a	2,63 a	10,70 b
Quarto	93,19 a	5,03 a	1,04 b	6,03 c	79,33 a	8,57 a	8,00 a	2,36 a	24,10 a
Média	92,97	6,35	1,28	7,23	76,02	9,12	10,16	2,56	14,05
C.V (%)	0,83	22,23	17,60	6,03	1,44	12,85	22,33	20,69	11,41
Ordem do cladódio	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS			mg.kg ⁻¹ MS				
Segundo	93,02 a	25,72 a	15,19 a	2,10 a	490,75 b	120,47 a	27,02 a	68,52 a	323,54 a
Terceiro	92,70 a	30,93 a	14,73 a	1,40 a	735,89 a	89,07 c	33,59 a	52,41 a	501,50 a
Quarto	93,19 a	28,01 a	12,45 a	1,90 a	957,49 a	105,27 a	9,01 b	39,27 a	523,98 a
Média	92,97	28,22	14,13	1,80	728,04	104,94	23,21	53,40	449,67
C.V (%)	0,83	24,40	16,26	25,66	17,82	0,32	37,54	25,37	33,95

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.9. Composição química e bromatológica dos cladódios secundários de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*

Variedades	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS							g.kg ⁻¹ MS
IPA-100003	93,95 a	6,02 a	1,79 a	10,98 a	72,95 a	8,27 a	9,63 a	3,09 b	19,30 b
IPA-200016	93,60 a	6,60 a	1,31 a	9,54 a	72,97 a	9,57 a	12,05 a	2,28 b	5,35 c
IPA-200008	93,80 a	7,72 a	1,10 a	14,43 a	68,90 a	7,86 a	12,33 a	2,27 b	14,20 c
IPA-100004	94,08 a	6,47 a	1,46 a	12,43 a	71,69 a	7,96 a	10,37 a	3,16 b	10,65 c
IPA-200021	93,45 a	6,29 a	1,64 a	13,71 a	69,21 a	9,16 a	10,07 a	4,56 a	32,75 a
IPA-200205	93,72 a	6,09 a	1,08 a	7,15 a	78,05 a	7,62 a	9,73 a	2,24 b	4,65 c
IPA-200149	93,02 a	7,03 a	1,61 a	8,37 a	74,38 a	8,60 a	11,27 a	2,68 b	7,35 c
Média	93,66	6,60	1,43	10,94	72,59	8,43	10,78	2,90	13,46
C.V (%)	0,31	23,11	19,86	32,85	6,21	12,37	21,94	23,55	35,71
	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS				mg.kg ⁻¹ MS			
IPA-100003	93,95 a	29,69 b	13,80 a	2,90 a	72,99 c	79,10 b	21,54 b	52,65 a	375,99 b
IPA-200016	93,60 a	41,64 a	13,61 a	1,50 b	36,67 c	72,85 b	30,24 a	19,19 b	228,56 c
IPA-200008	93,80 a	40,43 a	9,95 a	2,90 a	1315,59 a	59,38 b	33,15 a	34,70 b	102,50 c
IPA-100004	94,08 a	31,38 b	12,51 a	1,73 b	279,45 b	66,25 b	13,18 b	25,56 b	356,28 b
IPA-200021	93,45 a	51,28 a	14,75 a	1,90 b	73,68 c	169,02 a	26,93 a	26,64 b	128,62 c
IPA-200205	93,72 a	29,70 b	13,55 a	2,05 b	36,68 c	196,44 a	19,87 b	40,31 b	704,57 a
IPA-200149	93,02 a	25,72 b	15,19 a	2,10 b	490,75 b	120,47 b	27,02 a	68,52 a	323,54 b
Média	93,66	35,69	13,34	2,15	329,40	109,07	24,56	38,23	317,15
C.V (%)	0,31	24,76	12,97	24,43	49,28	35,77	24,87	38,29	24,45

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 4.10. Composição química e bromatológica dos cladódios terciários de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*

Variedades	MS	PT	EE	FB	ENN	MM	N	P	K
	%	% MS							g.kg ⁻¹ MS
IPA-100003	93,82 a	6,81 a	1,82 a	9,84 a	71,09 a	10,44 a	10,87 a	2,81 a	13,25 b
IPA-200016	92,43 b	9,13 a	1,15 a	7,85 a	72,83 a	9,05 a	14,60 a	2,38 a	15,00 b
IPA-200008	94,03 a	6,84 a	1,00 a	10,76 a	69,99 a	11,40 a	10,97 a	2,41 a	33,90 a
IPA-100004	93,86 a	6,49 a	1,51 a	7,85 a	74,26 a	9,88 a	10,40 a	2,73 a	20,05 b
IPA-200021	92,76 b	5,88 a	1,33 a	10,21 a	73,02 a	9,56 a	11,20 a	2,88 a	22,10 b
IPA-200205	92,49 b	6,07 a	1,20 a	7,59 a	76,70 a	8,44 a	9,70 a	2,05 a	33,65 a
IPA-200149	92,70 b	6,98 a	1,20 a	7,29 a	74,34 a	10,19 a	11,20 a	2,63 a	10,70 b
Média	93,16	6,89	1,32	8,77	73,18	9,85	11,28	2,56	21,24
C.V (%)	0,88	19,42	23,32	26,21	4,21	12,36	16,52	28,05	34,97
Variedades	MS	Ca	Mg	Na	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	%	g.kg ⁻¹ MS							mg.kg ⁻¹ MS
IPA-100003	93,82 a	33,12 a	15,06 a	2,27 a	401,91 c	71,99 b	28,99 a	46,86 a	540,45 a
IPA-200016	92,43 b	38,51 a	13,49 a	1,63 a	423,53 c	139,64 b	35,85 a	22,09 b	512,53 a
IPA-200008	94,03 a	51,20 a	17,47 a	2,73 a	399,93 c	79,39 b	14,70 b	57,33 a	139,47 b
IPA-100004	93,86 a	46,62 a	15,77 a	1,60 a	510,48 b	98,36 b	35,56 a	33,32 b	377,29 a
IPA-200021	92,76 b	21,46 a	13,27 a	1,67 a	246,49 d	201,61 a	29,82 a	29,25 b	212,76 b
IPA-200205	92,49 b	32,58 a	17,21 a	1,50 a	185,59 d	208,21 a	31,98 a	34,22 b	205,19 b
IPA-200149	92,70 b	30,93 a	14,73 a	1,40 a	735,89 a	89,07 b	33,59 a	52,40 a	501,50 a
Média	93,16	36,35	15,29	1,83	414,83	126,90	30,07	39,39	355,60
C.V (%)	0,88	25,52	15,39	44,98	27,09	30,77	18,11	27,94	23,50

MS matéria seca, PT proteína total, EE extrato etéreo, FB fibra bruta, ENN extrato não nitrogenado, MM matéria mineral, N nitrogênio, P fósforo, K potássio, Ca cálcio, Mg magnésio, Na sódio, S enxofre, Fe ferro, Cu cobre, Zn zinco, Mn manganês

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

4.4 Conclusões

As variedades de palma forrageira IPA-100003, IPA-200016, IPA-200008, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205 e IPA-200149 apresentam variabilidade genética no conteúdo químico e nutricional, tanto entre genótipos quanto na ordem dos cladódios dentro do genótipo.

Os conteúdos de proteínas e de nutrientes (nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, zinco e manganês) tendem a ser maiores nos cladódios mais jovens, em fase de desenvolvimento. O teor de extrato etéreo, extrato não nitrogenado, fibra bruta, fósforo e sódio tendem a ser maiores nos cladódios maduros.

4.5 Referências

ALVES, F.A.L.; FERREITA-SILVA, S. L.; SILVA, E.N. da.; SILVEIRA, J.A.G. Clones de cajueiro-anão precoce expostos ao estresse salino e ao acúmulo de potássio e sódio. **Revista Ciência Agronômica**, v.39, n.3, p.422-428, 2008.

ALVES, F.A.L.; FERREITA-SILVA, S. L.; MAIA, J.M.; FREITAS, J.B.S.; SILVEIRA, J.A.G. Regulação do acúmulo de Na⁺ e resistência à salinidade em (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v.20, n.1, 2015. <http://dx.doi.org/10.12661/pap.2015.001>

BARI, M.N.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K.; RASOOL, N.; BUKHARI, I.H.; AKRAM, S.; BOKHARI, T.H.; SHAHID, M.; HAMEED, M. AHMAD, V.U. Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, n.4, v.34, p.990-995, 2012.

BATISTA, A.M.; MUSTAFA, A.F.; MCALLISTER, T.; WANG, Y.; SOITA, H.; MCKINNON, J.J. Effects of variety on chemical composition, *in situ* nutrient disappearance and *in vitro* gas production of spineless cacti. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, n.5, p.440-445, 2003.

BENSADÓN, S.; HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; SÁYAGO-AYERDI, S.; GOÑI, I. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. **Plant Foods Human Nutrition**, v.65, p.210-216, 2010.

CHAHDOURA, H.; MORALES, P.; BARREIRA, J.C.M.; BARROS, L.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; FERREIRA, I.C.F.R.; ACHOUR, L. Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff and *Opuntia macrorhiza* (Engelm.). **Food Science and Technology**, v.64, n.1, p.446-451, 2015.

CONTRERAS-PADILLA, M.; PÉREZ-TORRERO, E.; HERNÁNDEZ-URBIOLA, M.I.; HERNÁNDEZ-QUEVEDO, G.; REAL, A. del.; RIVERA-MUÑOZ, E.M.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M.E. Evaluation of oxalates and calcium in nopal pads (*Opuntia ficus-indica* var. redonda) at different maturity stages. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.24, n.1, p.38-43, 2011.

CONY, M.A.; TRIONE, S.O.; GUEVARA, J.C. Macrophysiological Responses of Two Forage *Opuntia* Species to Salt Stress. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, v.8, p.52-62, 2006.

DUBEUX-JUNIOR, J.C.B.; ARAÚJO-FILHO, J.T.; SANTOS, M.V.F. dos.; LIRA, M. de. A.; SANTOS, D.C. dos.; PESSOA, R.A.S. Adubação mineral no crescimento e composição mineral da palma forrageira – Clone IPA-20. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.1, p.129-135, 2010.

DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F. dos.; CAVALCANTE, M.; SANTOS, D.C. dos. Potencial da palma forrageira na américa do sul. **Cactusnet Newsletter**, v.13, ed. esp., p.29-40, 2013.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas**. 2. ed. Londrina, 2006. 401p.

YADAV, G.R.K.Y.; DAGAR, J.C.; LAL, K.; SINGH, G. Growth and fruit characteristics of edible cactus (*Opuntia ficus-indica*) under salt stress environment. **Journal of Soil Salinity and Water Quality**, v.5, n.2, p.136-142, 2013.

GUEVARA-FIGUEROA, T.; JIMÉNEZ-ISLAS, H.; REYES-ESCOGIDO, M.; MORTENSEN, A.G.; LAURSEN, B.B.; LIN, L-W.; LEÓN-RODRÍGUEZ, A. de.; FOMSGAARD, I.S.; ROSA, A.P.B. de L. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.525-532, 2010.

HERNÁNDEZ-URBIOLA, M.I.; PÉREZ-TORREDO, E.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M.E. Chemical Analysis of Nutritional Content of Prickly Pads (*Opuntia ficus indica*) at Varied Ages in an Organic Harvest. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.8, n.5, p.1287-1295, 2011.

IBGE – Pesquisa Pecuária Municipal, Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 09 novembro de 2015.

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. 2015. Dados climáticos da Estação de Arcoverde: série histórica de 1961 a 2014. Banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em:<<http://www.inmet.gov.br/>> Acesso em: 24 agosto de 2015.

LIMA, R.L.S. de.; SEVERINO, L.S.; CAZETTA, J.O.; AZEVEDO, C.A.V. de.; SOFIATTI, V.; ARRIEL, N.H.C. Redistribuição de nutrientes em folhas de pinhão-mansão entre estádios fenológicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.11, p.1175-1179, 2011.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MESSIAS, A.S.; GOMES, E.W.F.; SANTANA, F.C.T. de. Laboratório de análise de água, planta e ração - Análise de planta e ração. In: FIGUEIREDO, M. do. V.B. *et al.* **Manual de**

práticas laboratoriais: Um guia para pesquisa. 1. ed. Recife: Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), 2013. cap. 17, p. 327-346.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL-MIN. **Nova delimitação do Semi-Árido Brasileiro.** Brasília, DF, 32p., 2005.

NAZARENO, M.A. Cactus como fuente de sustancias promotoras de la salud. **Cactusnet Newsletter**, v.13, ed. esp., p.95-105, 2013.

NOY-MEIR, I. Desert ecosystems: environment and producers. **Annual Reviews Ecology and Systematics**, v.4, p. 25-51, 1973.

OLIVEIRA, F. T.; SILVA, J. S.; SILVA, R. P.; ANDRADE-FILHO, F. C.; PEREIRA-JUNIOR, E. B. Palma forrageira: Adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.4, p.27-37, 2010.

QUEIROZ, M.G. de.; SILVA, T.G.F. da.; ZOLNIER, S.; SILVA, S.M.S. e.; LIMA, L.R.; ALVES, J. de. O. Características morfofisiológicas e produtividade da palma forrageira em diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.10, p.931-938, 2015.

RIBEIRO, E.M. de. O.; SILVA, N.H. da.; LIMA-FILHO, J.L. de.; BRITO, J.Z. de.; SILVA, M. da. P.C.da. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.30, v.4, p.933-939, 2010.

RODRÍGUEZ-GARCIA, M.E.; LIRA, C. de.; HERNÁNDEZ-BECERRA, E.; CORNEJO-VILLEGAS, M.A.; PALACIOS-FONSECA, A.J.; ROJAS-MOLINA, I.; REYNOSO, R.; QUINTERO, L.C.; DEL-REAL, A.; ZEPEDA, T.A.; MUÑOZ-TORRES, C. Physicochemical Characterization of Nopal Pads (*Opuntia ficus indica*) and Dry Vacuum Nopal Powders as a Function of the Maturation. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.62, n.3, p.107-112, 2007.

RODZIEWICZ, P.; SWARCEWICZ, B.; CHMIELEWSKA, K.; WOJAKOWSKA, A.; STOBIECKI, M. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.1, p.1-19, 2014.

SÁENZ, C. Características y composición química de los nopales. In: SÁENZ, C. **Utilización agroindustrial del nopal**. Roma: FAO, 2006. p. 7-22.

SANTOS-ZEA, L.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDIVAR, S.O. Comparative Analyses of Total Phenols, Antioxidant Activity, and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia* spp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.7054-7061, 2011.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SILVA, F.A.S.E.; AZEVEDO, C.A.V. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: World Congress on Computers in Agriculture, 4, Orlando-FL-USA: **Anais**. Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2006. p.393-396.

SILVA, J.A. da.; BONOMO, P.; DONATO, S.L.R.; PIRES, A.J.V.; ROSA, R.C.C.; DONATO, P.E.R. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e adubações química. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, suplemento, p.866-875, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

CAPÍTULO V

Variabilidade sazonal dos compostos fenólicos e atividade antioxidante em cladódios de palma dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*

Variabilidade sazonal dos compostos fenólicos e atividade antioxidante em cladódios de palma dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*

Resumo – A palma (*Opuntia* spp.) é uma cactácea conhecida por apresentar compostos bioativos que atuam como antioxidantes naturais. Ademais, a palma é uma planta muito utilizada na região semiárida por ser considerada uma forrageira de grande importância para a alimentação animal, notadamente na estação seca. Os objetivos do estudo foram caracterizar as principais classes de fitoquímicos, determinar o conteúdo de fenóis, flavonoides e antocianinas e avaliar o potencial antioxidante de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida do Brasil em dois períodos de coleta (seco e chuvoso). No estudo foram utilizados extratos etanólicos brutos de cladódios das variedades (IPA-100003, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200008, IPA-200149 e IPA-200016). Quanto a classe de compostos fitoquímico do extrato etanólico, apenas os flavonoides e esteroides foram detectados em todas as variedades de palma, nos dois períodos analisados. O teor de compostos fenólicos variou de 1,24 a 5,41 mg GAE g⁻¹ MS, os flavonoides 0,90 a 3,43 mg QE g⁻¹ MS, as antocianinas 0,05 a 0,34 µg QE 100 g⁻¹ MS e atividade antioxidante 39,59 a 217,17 µM TEAC g⁻¹ MS. Observou-se a ocorrência de variabilidade química e atividade antioxidante, tanto entre as variedades botânicas estudadas quanto entre os períodos de coleta. Os cladódios de palma possuem quantidade razoável de compostos fenólicos que podem indicar seu potencial como antioxidantes naturais.

Termos para indexação: ABTS^{■+}, análise de alimento, compostos fenólicos, flavonoides, forrageira, semiárido

Seasonal variability of chemical profile and antioxidant potential in cladodes of cactus pear genera *Opuntia* and *Nopalea*

Abstract – The cactus pear (*Opuntia* spp.) is a cactaceous known to have bioactive compounds that act as natural antioxidants. Moreover, the cactus pear is a plant widely used in semiarid region by be considered a forage of great importance for animal feed, especially in the dry season. The aim of study was characterize chemical profile, determine content of phenols, flavonoids and anthocyanins, well as evaluating the antioxidant potential of varieties of cactus pear genera *Opuntia* and *Nopalea* cultivated in Semiarid region of Brazil in dry and rainy season. In study were used extract crude ethanol of cladodes of varieties (IPA-100003, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200008, IPA-200149 e IPA-200016). As for the phytochemical profile of ethanolic extract, only flavonoids and steroids were detected in all varieties of cactus pear in both periods analyzed. The phenolic compounds ranged 1.24 to 5.41 mg GAE g⁻¹ DW, flavonoids 0.90 to 3.43 mg QE g⁻¹ DW, anthocyanins 0.05 to 0.34 µg QE 100 g⁻¹ DW and antioxidant activity 39.59 to 217.17 µM TEAC g⁻¹ DW. Observed the occurrence of chemical variability and antioxidant, both among botanical varieties studied how much between collection periods. The cladodes of cactus pear have reasonable amount of phenolic compounds that can indicate their potential as natural antioxidants.

Index terms: ABTS^{■+}, analysis of food, phenolic compounds, flavonoids, forage, semiarid

5.1 Introdução

A palma dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* é amplamente cultivada na região Semiárida do nordeste do Brasil, principalmente nos estados de Pernambuco, Alagoas, Paraíba, Sergipe, Bahia e Ceará, como base de sustentação alimentar dos ruminantes, notadamente na estação seca. Estima-se que a área cultivada no Brasil alcança cerca de 550.000 ha. Essa região é caracterizada por apresentar alto índice de evaporação anual, superior a 2000 mm, e média anual de chuvas inferior a 750 mm, concentrada em um único período de 3 a 5 meses, além disso, alguns anos a estiagem é prolongada, resultando no fenômeno das secas (ARAÚJO *et al.*, 2005).

A palma é uma cactácea adaptada as condições de déficit hídrico, pois tem mecanismos morfofisiológicos que absorvem águas de pequenas precipitações e que reduzem a perda de água pela transpiração. Assim, em virtude dessas características, se adapta às regiões áridas e semiáridas, onde a água é um fator limitante à produção agropecuária (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Nos últimos anos aumentou-se o interesse dos estudos dos químicos associados com os cladódios de palma, nesse sentido, pesquisas têm focado na capacidade antioxidante dos extratos aquosos atribuída principalmente aos fenóis e flavonoides (SANTOS-ZEA *et al.*, 2011).

Por apresentar uma grande diversidade genética nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, com cerca de 300 espécies (MONDRAGÓN-JACOBO; PÉREZ-GONZÁLEZ, 2001), existe a necessidade de se caracterizar as variedades cultivadas no Brasil a fim de se obter informações nutricionais e propriedades bioativas. Assim, os objetivos do estudo foram caracterizar as principais classes de fitoquímicos, determinar o conteúdo de fenóis, flavonoides e antocianinas e avaliar o potencial antioxidante de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida do Brasil em dois períodos de coleta (seco e chuvoso).

5.2 Material e Métodos

5.2.1 *Material vegetal*

Na pesquisa foram utilizados cladódios das variedades de palma forrageira, com três anos de idade, coletadas na estação experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado no município de Arcoverde, Estado de Pernambuco, Brasil. Os materiais utilizados estão listados na Tabela 5.1.

Os cladódios secundários e terciários de cada variedade foram coletados de seis plantas, as 8:00 horas da manhã no dia 19 de fevereiro de 2013 (período seco) e no dia 10 de maio de

2013 (período chuvoso). Após a coleta, o material foi limpo, cortado em pequenos pedaços (2 a 3 cm de comprimento) e secos em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, onde permaneceu por 72 horas, até peso constante. O material seco foi triturado em moinho tipo Willey® e acondicionados em potes plásticos vedados.

Tabela 5.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil

Nº	Variedades	Espécie	Nome vulgar
1	IPA-100003	<i>Opuntia ficus indica</i>	IPA-20
2	IPA-200016	<i>Opuntia stricta</i>	Orelha de Elefante Mexicana
3	IPA-200008	<i>Opuntia atropes</i>	F-08
4	IPA-100004	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Miúda
5	IPA-200021	<i>Nopalea cochenillifera</i>	F-21
6	IPA-200205	<i>Nopalea cochenillifera</i>	IPA-Sertânia
7	IPA-200149	<i>Opuntia larreri</i>	-

5.2.2 Extração etanólica

A extração do material triturado (10 g) foi realizada com etanol 95% à temperatura ambiente, cobrindo-se toda a amostra com o solvente. As amostras ficaram em contato com o solvente durante oito dias, sendo agitados, diariamente, renovando-se o solvente extrator a cada dois dias. Após esse período, os extratos foram filtrados e concentrados utilizando um evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, obtendo-se os extratos de etanol bruto, e mantidos em frascos de vidro hermeticamente fechados em temperatura ambiente (22 °C) até sua utilização (VIZCAINO *et al.*, 2007).

5.2.3 Prospecção química

Um miligrama de cada amostra (extrato etanólico bruto) foi utilizado para a identificação das principais classes de compostos químicos, empregando-se os protocolos descritos por Matos (2009) e Desoti *et al.* (2011). A intensidade da cor e/ou o aparecimento de um precipitado na realização das reações químicas foram interpretados como respostas aos ensaios.

Os alcaloides foram detectados pelo método de precipitação, usando-se os reativos de *Bouchardat* (A), *Mayer* (B), *Dragendorf* (C) e *Bertrand* ou ácido sílico-túngstico (D). Os esteroides foram detectados pela reação de *Liebermann-Burchard*. Os taninos pelos métodos de precipitação com sais de ferro e gelatina. Os flavonoides detectados pelas reações de *Shinoda*

e *Taubouk*. As saponinas pela agitação do extrato aquoso com formação de espuma persistente (DESOTI *et al.*, 2011).

5.2.4 Determinação do conteúdo de fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado nos extratos etanólicos brutos, em triplicata, pelo método espectrofotométrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (GULCIN *et al.*, 2004), com modificações nas dosagens. Inicialmente, uma alíquota de 300 μL do extrato (5 mg mL^{-1} em etanol) foi transferida para tubos de ensaio, os quais foram adicionados 60 μL do reagente Folin-Ciocalteu juntamente com uma alíquota de 2.460 μL de água destilada e agitada por 60 segundos. Em seguida foi adicionado 180 μL da solução de Na_2CO_3 a 15% e agitada novamente por mais 30 segundos, resultando numa solução final de $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$. A mistura reacional foi deixada em repouso por 30 minutos, à temperatura de $45 \text{ }^\circ\text{C}$, na ausência da luz. A leitura da absorbância a 760 nm foi registrada empregando-se um espectrofotômetro UV-*vis* da Shimadzu®, modelo UV-2550. Uma curva padrão com ácido gálico (1 a $15 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) foi obtida nas mesmas condições. Os resultados foram expressos em mg de GAE (equivalente de ácido gálico) por grama de massa seca ($\text{mg GAE g}^{-1} \text{ MS}$).

5.2.5 Determinação do conteúdo de flavonoides totais

O conteúdo de flavonoides totais foi determinado nos extratos etanólicos brutos, em triplicata, pelo método descrito por Pereira *et al.* (2009), com modificações nas dosagens. Inicialmente, uma alíquota de 5 mL do extrato (2 mg mL^{-1} em metanol) foi transferida para balões volumétricos de 10 mL, os quais foram adicionados 0,5 mL de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2% (m v^{-1}) e o volume completado com solução metanólica de ácido acético a 5% (v v^{-1}), onde permaneceram por 30 minutos à temperatura ambiente, na ausência da luz. A leitura da absorbância a 425 nm foi registrada empregando-se um espectrofotômetro UV-*vis* da Femto®, modelo 700 plus. Uma curva padrão com quercetina (1 a $200 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) foi obtida nas mesmas condições. Os resultados foram expressos em mg de QE (equivalente de quercetina) por grama de massa seca ($\text{mg QE g}^{-1} \text{ MS}$).

5.2.6 Determinação do conteúdo de antocianinas totais

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado nos extratos etanólicos brutos, em triplicata, pelo método descrito por Lemos (2008), com modificações nas dosagens. Foram homogeneizados em um erlemeyer de 50 mL revestidos com papel alumínio 0,5 g de amostra

(extrato bruto) em 20 mL da solução extratora (etanol 95% em HCl 1,5 mol.L⁻¹) (85:15, v.v⁻¹) e estocados por 18 horas a 4 °C. As amostras foram coletadas e completadas com a solução extratora para balões volumétricos de 25 mL, revestidos com papel alumínio. A leitura da absorbância a 535 nm foi registrada empregando-se um espectrofotômetro UV-*vis* da Femto®, modelo 700 plus. Os resultados foram expressos em µg de (QE) (equivalente quercetina) por 100 gramas de massa seca (µg QE. 100 g⁻¹ MS).

Para quantificar as antocianinas totais, utilizou-se da seguinte fórmula:

$$\text{Antocianinas totais } (\mu\text{g de QE g}^{-1}) = A535.Fd.10/\bar{E}$$

Onde: $A535$ = absorbância à 535nm;

\bar{E} = 765 (coeficiente de extinção molar para quercetina 1%) a 535 nm;

Fd = fator de diluição.

5.2.7 Determinação da atividade antioxidante total

A capacidade de sequestrar o radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbezotiazolina-6-ácido sulfônico ABTS^{•+}) foi determinada segundo método descrito por Rufino *et al.* (2007). O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS (7 mmol.L⁻¹) com persulfato de potássio (140 mmol.L⁻¹). A solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16 horas. Em seguida a solução foi diluída em etanol até obter absorbância de 0,70 ±0,05 nm, em comprimento de onda a 734 nm. As concentrações de 200, 300 e 400 mg L⁻¹ dos extratos etanólicos foram adicionados a solução de ABTS^{•+}, e a absorbância registrada, após 6 minutos, em espectrofotômetro UV-*vis* da Femto®, modelo 700 plus. A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, e os resultados expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (µmol.L⁻¹ TEAC g⁻¹ MS).

5.2.8 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso, com sete tratamentos, representados pelas variedades, com três repetições. As parcelas experimentais foram constituídas por duas plantas. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em média ± desvio padrão. Após análise de variância dos dados, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa Assistat 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2009).

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Prospecção química

Os resultados obtidos na triagem fitoquímica de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, no período seco e chuvoso encontram-se na Tabela 5.2. Dos testes realizados para a identificação das principais classes (alcaloides, esteroides, taninos, flavonoides e saponinas) presentes nos cladódios da palma, foi detectada a presença de flavonoides e esteroides em todas as variedades nos dois períodos estudados (seco e chuvoso). A presença de tanino foi detectada na variedade IPA-200149 no período seco, e nas variedades IPA-100003, IPA-200016, IPA-200205 no período chuvoso.

Tabela 5.2. Perfil fitoquímico de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, nos períodos seco e chuvoso

Variedades	Alcaloides				Esteroides (Liebermann- Burchard)	Taninos		Flavonoides		Saponinas
	A	B	C	D		Gelatina 0,5%	FeCl ₃ 2%	Fita- magnésio (Shinoda)	Fluorescência (Taubouk)	Espuma
Período Seco										
IPA-100003	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200016	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200008	-	-	-	-	+	-	-	++	++	-
IPA-100004	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
IPA-200021	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200205	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200149	-	-	-	-	+	+	+	++	+++	-
Período Chuvoso										
IPA-100003	-	-	-	-	+	-	+	+++	+++	-
IPA-200016	-	-	-	-	+	+	+	+++	+++	-
IPA-200008	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	-
IPA-100004	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	-
IPA-200021	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	-
IPA-200205	-	-	-	-	+	-	+	+++	+++	-
IPA-200149	-	-	-	-	+	-	-	++	++	-

Legenda: (A) *Bouchardat*, (B) *Mayer*, (C) *Dragendorf*, (D) *Bertrand* ou ácido sílico-túngstico; “+++” (intensidade alta), “++” (intensidade média), “+” (intensidade baixa), “-” (reação negativa)

A presença de flavonoides e esteróis em cladódios de palma forrageira (*Opuntia ficus indica*) foi citada por Brás (2011) e Soares (2012), a presença de taninos nos cladódios de palma foi relatada por Mendez *et al.* (2012) estudando *Opuntia ficus indica*, e por Bari *et al.* (2012), pesquisando *Opuntia monacantha*, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho.

Os resultados da triagem fitoquímica de variedades de palma para os flavonoides e taninos possivelmente indicam haver diferença entre as variedades e períodos de coleta, já que a intensidade das respostas das amostras foi diferente, comparando-as aos seus referidos brancos (reagentes com ausência dos extratos), além disso, dependendo do período de coleta a classe de fitoquímico foi detectada ou não (Tabela 5.2). A resposta aos flavonoides, para os

dois métodos de investigação *Shinoda* (fita-magnésio) e *Taubouk* (fluorescência), foi mais intensa no período chuvoso para todas as variedades, com exceção do IPA-200149, cuja variedade se destacou no período seco quando se utilizou o segundo método (*Taubouk*).

Os estresses abióticos (seca, salinidade, calor, radiação ultravioleta) são os principais fatores ambientais que afetam negativamente o crescimento e desenvolvimento das plantas das regiões semiáridas de todo o mundo (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011). Ademais, os estresses bióticos (ataque por fungos, bactérias, vírus, nematódeos, ácaros, animais) também podem provocar redução do crescimento e desenvolvimento das plantas nessas regiões. Assim, para sobreviverem as plantas dessas regiões desenvolveram estruturas, baseadas em características anatômicas e/ou químicas relacionadas a compostos biologicamente ativos de massa molecular variada (SOARES; MACHADO, 2007).

As defesas químicas (compostos fenólicos, terpenos e compostos nitrogenados) além de atuarem como substâncias tóxicas e repelentes alimentares aos patógenos, estão relacionadas ao ajustamento osmótico e proteção contra as espécies reativas de oxigênio (EROs), bem como por estabilizar proteínas e membranas celulares nas plantas expostas aos estresses abióticos e bióticos (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; RODZIEWICZ *et al.*, 2014).

5.3.2 Determinação do teor de fenólicos e flavonoides totais

Os resultados do conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais das variedades de palma encontram-se na Figura 5.1. O conteúdo de compostos fenólicos totais nos cladódios de palma variou significativamente entre as variedades e entre os períodos de coleta do material. Os valores variaram de 1,24 mg GAE g⁻¹ MS (IPA-200205) a 2,85 mg GAE g⁻¹ MS (IPA-100003) (período seco); e 1,99 mg GAE g⁻¹ MS (IPA-200205) a 5,41 mg GAE g⁻¹ MS (IPA-200021) (período chuvoso) (Figura 5.1).

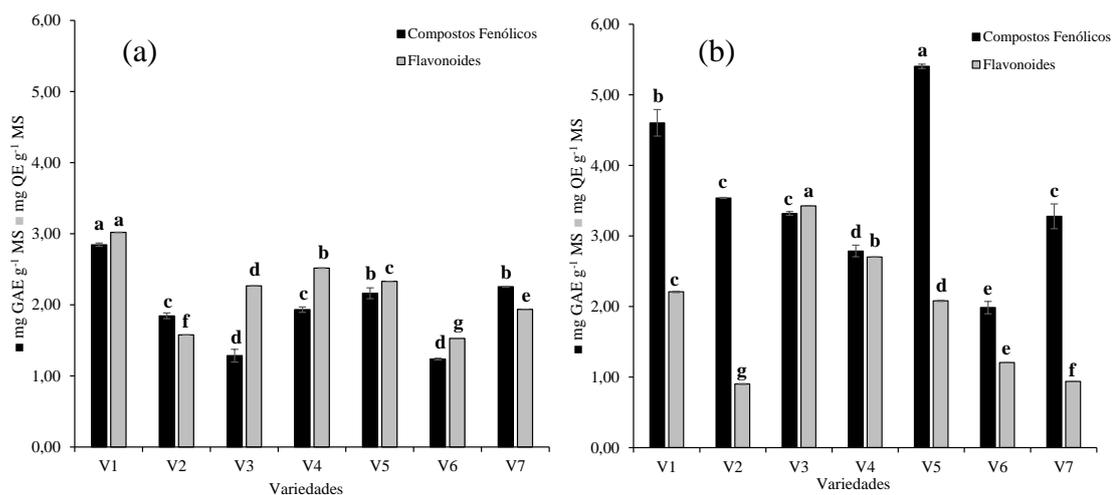


Figura 5.1. Teor de compostos fenólicos e flavonoides totais das variedades de palma. (a) período seco; (b) período chuvoso. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). *As médias seguidas pela mesma letra nas colunas pretas ou cinzas não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam a média (n=3) \pm desvio padrão

Os valores encontrados neste trabalho para os fenólicos totais estão acima dos relatados por Santos-Zea *et al.* (2011) e Corral-Aguayo *et al.* (2008) estudando dez variedades de palma (*Opuntia* spp.) cultivadas no México, valores esses que variaram de 0,14 a 0,91 mg GAE g⁻¹ MS. No entanto, Guevara-Figueroa *et al.* (2010) e Bensadón *et al.* (2010) pesquisando variedades de palma comerciais e selvagens cultivadas no México relataram a variação de 2,00 a 37,10 mg GAE g⁻¹ MS no conteúdo de fenólicos totais.

No período chuvoso o conteúdo de compostos fenólicos entre as variedades (Figura 5.1) foi superior aos valores do período seco, variando de 44% (IPA-100004) a 157% (IPA-200008). A variação de compostos químicos (carboidratos) entre o período de coleta ou estação do ano (seca e chuvosa) no gênero *Opuntia* foi relatada por Ribeiro *et al.* (2010) estudando quatro variedades (gigante, redonda, copena F1 e clone 20) cultivadas na região nordeste do Brasil. Os autores relataram que o conteúdo de carboidratos totais é superior no período seco.

Assim como os compostos fenólicos, o conteúdo de flavonoides totais nos cladódios de palma variou ($p < 0,05$) entre variedades e entre períodos de coleta do material. Os valores variaram de 1,53 mg QE g⁻¹ MS (IPA-200205) a 3,02 mg QE g⁻¹ MS (IPA-100003) (período seco); e 0,90 mg QE g⁻¹ MS (IPA-200016) a 3,43 mg QE g⁻¹ MS (IPA-200008) (período chuvoso) (Figura 5.1).

Os valores encontrados no presente trabalho para os flavonoides totais estão de acordo com os relatados por Guevara-Figueroa *et al.* (2010) estudando variedades de palma (*Opuntia*

spp.) (2,00 a 9,80 mg QE g⁻¹ MS) e Bari *et al.* (2012) pesquisando *O. monacantha* (4,44 mg QE g⁻¹ MS).

Ao contrário do conteúdo de compostos fenólicos o conteúdo de flavonoides entre as variedades foi superior no período seco, com exceção do IPA-200008 e IPA-100004 que obtiveram valores superiores no período chuvoso. Essa variação foi de 7,5% (IPA-100004) a 51,4% (IPA-200149) (Figura 5.1).

Os fenóis totais e os flavonoides nas plantas têm uma ampla variação, tanto na composição quanto no conteúdo, e variam entre espécies e dentro da mesma espécie. Os fatores que contribuem para essa diferença no gênero *Opuntia* são os fatores genéticos, condições ambientais de crescimento, solos, período de coleta, estresses, idade das plantas, ordem do cladódio analisado, tecidos analisados, temperatura de secagem do cladódio, métodos de extração e diferenças nas metodologias utilizadas nas determinações (BARI *et al.*, 2012; SANTOS-ZEA *et al.*, 2011).

As diferenças significativas entre as variedades, já era esperado, tendo em vista que se trata de materiais vegetais que possuem características fenotípicas divergentes. Essa situação é uma indicação favorável para o estudo da divergência genética. A diferença observada entre os períodos de coleta (seco e chuvoso) para os flavonoides e compostos fenólicos foi relatada por Sánchez-Rodríguez *et al.* (2011 e 2012) estudando a influência do estresse hídrico no perfil de fenólicos. Os autores relataram diferenças entre o teor e a composição de compostos fenólicos, flavonoides e seus glicosídeos entre variedades de tomate, dependendo da disponibilidade de água a que as mesmas foram submetidas, alguns genótipos apresentam o teor e composição de compostos fenólicos, flavonoides e seus glicosídeos superiores sob irrigação, noutros os teores eram maiores em condições de estresse hídrico. No geral, esses autores relatam que os compostos fenólicos totais nas variedades são superiores sob regime de irrigação, enquanto os flavonoides totais mostraram-se superiores sob déficit hídrico, corroborando com os resultados encontrados nesse trabalho.

Os flavonoides são comumente classificados por Sánchez-Rodríguez *et al.* (2012) como “compostos ambientais” por serem produzidos em resposta as condições ambientais (luz ultravioleta, déficit hídrico, estresse salino, baixas temperaturas, déficit de nutrientes (N, K, P, S, Mg e Fe), níveis de CO₂ elevados). Tavarini *et al.* (2011) relataram que o estresse hídrico induz a uma maior biossíntese dos compostos fenólicos em frutos de pêssgo. Entretanto, a disponibilidade de água aumenta os compostos fenólicos em variedades de tomate (BARBAGALLO *et al.*, 2008) e cevada (BANDURSKA *et al.*, 2012). Os mecanismos que

regulam essa influência não estão completamente claros, e existe variabilidade nas respostas entre as culturas.

A maioria dos trabalhos relata que o conteúdo de compostos fenólicos totais é maior que o de flavonoides totais, já que os flavonoides correspondem a uma classe de compostos fenólicos. Os resultados deste trabalho divergem dos relatados da literatura, uma vez que o conteúdo de flavonoides no período seco superou o dos compostos fenólicos totais, para a maioria das variedades estudadas. Provavelmente, os compostos fenólicos do grupo dos flavonoides são as moléculas mais produzidas quando as plantas estão sob estresse hídrico.

Estudando o gênero *Opuntia* spp. Guevara-Figueroa *et al.* (2010), Santos-Zea *et al.* (2011) e Bari *et al.* (2012) destacaram as variedades (Blanco, Tapon-I, Tapon-II, Jalpa, Gavia, Villanueva) com maior conteúdo de flavonoides totais em relação aos compostos fenólicos totais, corroborando com os resultados apresentados neste estudo.

A biossíntese de flavonoides, isoflavonoides e antocianinas são estimuladas por estresses ambientais, principalmente o déficit hídrico. Os flavonoides têm função de proteção nas plantas expostas a déficit hídrico por causa de suas propriedades antioxidantes, por eliminar espécies reativas de oxigênio (EROs), bem como por manter o turgor, e estabilizar proteínas e membranas celulares (RODZIEWICZ *et al.*, 2014). Os produtos da oxidação de flavan-3-ols (flavanóis) é aumentado sob estresse hídrico em folhas de chá (*Camellia sinensis*) (HERNÁNDEZ *et al.*, 2006). Além disso, o estresse hídrico aumenta o nível de flavonoides (quercetina, rutina, 1,5-dihidroixantona) na erva medicinal (*Hypericum brasiliense*). O aumento desses compostos provavelmente indica uma resposta à geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) causado pelo estresse hídrico (ABREU; MAZZAFERA, 2005).

5.3.3 Determinação do teor de antocianinas totais

Quanto aos resultados do conteúdo de antocianinas totais nas variedades de palma, nos períodos seco e chuvoso (Figura 5.2), verifica-se uma variação significativa entre as variedades e entre os períodos de coleta do material. No período seco, os valores variaram de 0,05 $\mu\text{g QE } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ (IPA-200016) a 0,34 $\mu\text{g QE } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ (IPA-200149); e no período chuvoso de 0,12 $\mu\text{g QE } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ (IPA-200016) a 0,26 $\mu\text{g QE } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$ (IPA-200021).

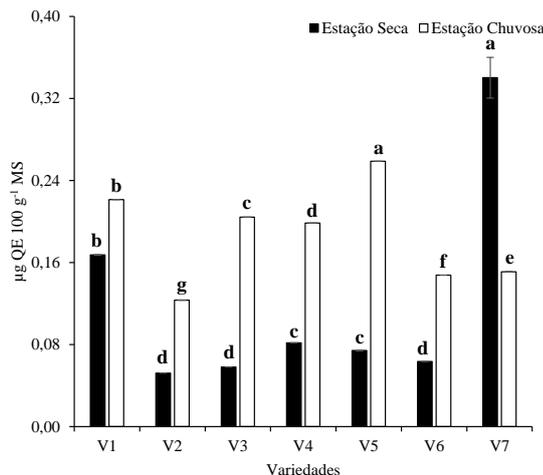


Figura 5.2. Determinação de antocianinas no período seco e chuvoso de variedades de palma. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). *As médias seguidas pela mesma letra nas colunas pretas ou brancas não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam a média (n=3) \pm desvio padrão

Ao contrário do que aconteceu para os flavonoides totais, o conteúdo de antocianinas foi superior para todas as variedades no período chuvoso, com exceção da IPA-200149 (V7), cujos cladódios se destacaram nesta determinação frente aos demais tratamentos, alcançando os maiores teores de antocianinas no período seco. Essa variação foi de 29,4% (IPA-100003) a 271,4% (IPA-200021) (Figura 5.2). Geralmente a redução no suplemento hídrico aumenta o teor de compostos fenólicos e antocianinas nas plantas, uma vez que essas moléculas agem contra o estresse hídrico (BANDURSKA *et al.*, 2012).

As antocianinas, metabólitos secundários da classe dos flavonoides são responsáveis pela coloração que varia de vermelho vivo à violeta e de branca a amarela claro. Os mesmos podem ser encontrados em todos os tecidos das plantas, incluindo folhas, raízes, caules, frutos e flores (LEMOS, 2008). Na literatura não foram encontrados estudos relacionados à quantificação de antocianinas totais no gênero *Opuntia*. Nesse gênero as betalaínas, metabólitos secundários da classe dos alcaloides, são muito citadas, tendo as mesmas uma extraordinária gama de cores que vão desde verde limão, laranja, vermelha a roxa (YAHIA; MONDRAGON-JACOBO, 2011).

5.3.4 Determinação da atividade antioxidante total

Os resultados da determinação da atividade antioxidante total das variedades de palma nos períodos seco e chuvoso encontram-se na Figura 5.3. A atividade antioxidante total nos

cladódios de palma variou, significativamente, entre as variedades e entre os períodos de coleta do material. No período seco, os valores variaram de 39,59 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ TEAC g^{-1} MS (IPA-200021 - V5) a 189,85 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ TEAC g^{-1} MS (IPA-200016 – V2); e, no período chuvoso, de 118,06 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ TEAC g^{-1} MS (IPA-200149 – V7) a 217,17 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ TEAC g^{-1} MS (IPA-200016 – V2).

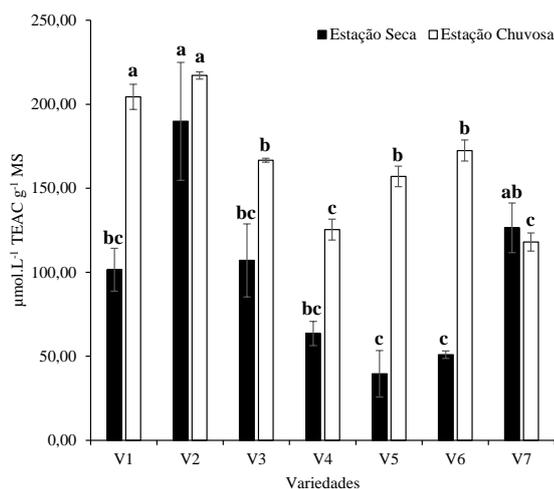


Figura 5.3. Determinação da atividade antioxidante total no período seco e chuvoso de variedades de palma. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). *As médias seguidas pela mesma letra nas colunas pretas ou brancas não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As barras representam a média (n=3) \pm desvio padrão

A capacidade antioxidante entre as variedades foi superior no período chuvoso, com exceção da IPA-200149 (V7), que obteve o maior valor no período seco. Apesar da diferença encontrada entre os períodos em relação à capacidade antioxidante, essa variação não foi significativa entre as variedades IPA-200016 (V2) e IPA-200149 (V7). No geral, a variação na capacidade antioxidante entre os períodos foi de 6,7% (IPA-200149) a 296,8% (IPA-200021) (Figura 5.3).

Bensadón *et al.* (2010), Santos-Zea *et al.* (2011) e Corral-Aguayo *et al.* (2008) estudando a capacidade antioxidante de *Opuntia* spp., relataram valores que variaram de 52,37 a 770,4 $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ MS para os cladódios. Assim como neste trabalho, os autores encontraram correlações positivas entre a capacidade antioxidante total e o teor de fenóis totais. Além disso, os autores relataram que algumas variedades com altos valores de fenóis totais não tiveram as mesmas respostas na capacidade antioxidante (Figura 5.4a). Essa diferença provavelmente se deve ao alto teor de açúcares e ácido ascórbico encontrado nos cladódios de

palma forrageira, que interferem na reação de oxidação-redução entre o reagente de Folin e compostos fenólicos.

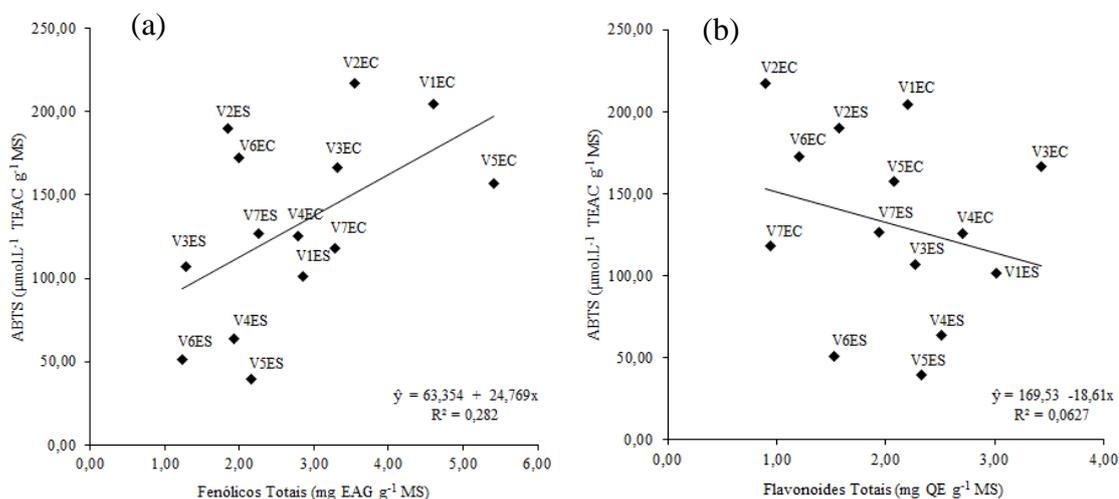


Figura 5.4. Correlação entre atividade antioxidante total e teor de compostos fenólicos totais (a) e/ou flavonoides totais (b) de variedades de palma. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). ES: estação seca. EC: estação chuvosa

Neste trabalho não foram encontradas correlações positivas entre os flavonoides totais e a capacidade antioxidante total (Figura 5.4b). Provavelmente, a maioria dos flavonoides presentes no extrato estava na forma glicosídica, com porções de açúcar ligadas a hidroxila no C-3, perdendo, assim, sua capacidade antioxidante quando glicosilados, especialmente em C-3 (SANTOS-ZEA *et al.*, 2011).

Entre as propriedades notáveis de polifenóis encontra-se a capacidade antioxidante e a eliminação de radicais livres. No entanto, a capacidade antioxidante de um alimento é cumulativa, e atua sinergicamente com vitaminas (ácido ascórbico), polifenóis, carotenoides, betalaínas, antocianinas, tocoferóis, cumarinas, alcalóides, ácidos fenólicos, aminoácidos não proteicos, sesquiterpenos, isopreno, carboidratos e enzimas, como a superóxido dismutase (SOD), glutatona redutase (GR), glutatona peroxiase (GPX), peroxirredoxina (PRXR), catalase (CAT), ascobarto peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR), polifenol oxidase (PPO) (CORRAL-AGUAYO *et al.*, 2008; FERREIRA *et al.*, 2010; SOARES; MACHADO, 2007; YAHIA; MONDRAGON-JACOBO, 2011; ZHONG *et al.*, 2010).

No presente estudo, a capacidade antioxidante foi determinada em extratos etanólicos brutos, assim a contribuição individual de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas não pôde ser diferenciada. Existem vários relatos da capacidade antioxidante de frutas e cladódios de palma, correlacionando-os com os compostos bioativos (vitaminas, polifenóis, carotenoides, betalainas, antocianinas, tocoferóis, carboidratos), mas os resultados não são consistentes, possivelmente devido as diferentes metodologias utilizadas, estágios de maturação, variedades, climas, entre outros.

Assim, os resultados deste trabalho podem ajudar em futuras seleções de variedades de palma na melhoria das características nutricionais e nutracêuticas. Além disso, este estudo contribui, significativamente, como referência no material certificado para adição de cladódios de palma, como ingrediente para alimentos funcionais, onde a aplicação teria benefícios econômicos e na saúde. No entanto, mais estudos precisam ser feitos para identificar e quantificar outros compostos bioativos e correlacioná-los com a capacidade antioxidante.

5.4 Conclusões

Tanto o gênero *Opuntia* como *Nopalea* contêm flavonoides e esteroides independente da variedade ou da estação do ano (seca e chuvosa).

Os compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, bem como, a atividade antioxidante total nos cladódios de ambos os gêneros variam entre variedades e entre as estações seca e chuvosa.

5.5 Referências

ABREU, I. N.; MAZZAFERA, P. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.43, n.3, p.241–248, 2005.

ARAÚJO, L. de F.; OLIVEIRA, L. de S.C.; PERAZZO NETO, A.; ALSINA, O.L.S. de; SILVA, F.L.H. da. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: Relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.3, p.379-384, 2005.

BANDURSKA, H.; PIETROWSKA-BOREK, M.; CIESLAK, M. Response of barley seedlings to water deficit and enhanced UV-B irradiation acting alone and in combination. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.34, n.1, p.161-171, 2012.

BARBAGALLO, R.N.; CHISARI, M.; BRANCA, F.; SPAGNA, G. Pectin methylesterase, polyphenol oxidase and physicochemical properties of typical long-storage cherry tomatoes cultivated under water stress regime. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.389-396, 2008.

BARI, M.N.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K.; RASOOL, N.; BUKHARI, I.H.; AKRAM, S.; BOKHARI, T.H.; SHAHID, M.; HAMEED, M. AHMAD, V.U. Biological activities of *Opuntia Monacantha* cladodes. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, n.4, v.34, p.990-995, 2012.

BENSADÓN, S.; HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; SÁYAGO-AYERDI, S.; GOÑI, I. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. **Plant Foods Human Nutrition**, v.65, p.210-216, 2010.

BRAS, A.A.Q. **Caracterização do extrato de *Opuntia ficus indica* (L.) Mill e avaliação de sua atividade fotoprotetora.** 2011. 21p. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.

CORRAL-AGUAYO, R.D.; YAHIA, E.M.; CARRILLO-LOPEZ, A.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.10498-10504, 2008.

DESOTI, V.C.; MALDANER, C.L.; CARLETTO, M.S.; HEINZ, A.A.; COELHO, M.S.; PIATI, D. TIUMAN, T.S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciência da Saúde da UNIPAR**, v.15, n.1, p.3-13, 2011.

FERREIRA, D.S.; ROSSO, V.V. de. MERCADANTE, A.Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, p.664-674, 2010.

GUEVARA-FIGUEROA, T.; JIMÉNEZ-ISLAS, H.; REYES-ESCOGIDO, M.; MORTENSEN, A.G.; LAURSEN, B.B.; LIN, L-W.; LEÓN-RODRÍGUEZ, A. de.; FOMSGAARD, I.S.; ROSA, A.P.B. de L. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.525-532, 2010.

GULCIN, I.; SAT, I.G.; BEYDEMIR, S.; ELMASTAS, M.E.; KUFREVIOGLU, O.I. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). **Food Chemistry**, v.87, p.393-400, 2004.

HERNÁNDEZ, I.; ALEGRE, L.; MUNNÉ-BOSCH, S. Enhanced oxidation of flavan-3-ols and proanthocyanidin accumulation in water stressed tea plants. **Phytochemistry**, v.67, p.1120–1126, 2006.

LEMOS, A.R. **Caracterização físico-química, bioquímica e avaliação da atividade antioxidante em genótipos de Urucueiros (*Bixa orellana* L.)**. 2008. 65p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: EdUFC, 2009. 150p.

MENDEZ, M.; RODRÍGUEZ, R.; RUIZ, J.; MORALES-ADAME, D.; CASTILLO, F.; HERNÁNDEZ-CASTILLO, F.D.; AGUILAR, C.N. Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. **Industrial Crops and Products**, v.37, p.445-450, 2012.

MONDRAGÓN-JACOBO, C.; PÉREZ-GONZÁLEZ, S. **Cactus (*Opuntia* spp.) as forage**. Plant production and protection paper da FAO, 169. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2001. 146p.

OLIVEIRA, F.T.; SILVA, J.S.; SILVA, R.P.; ANDRADE-FILHO, F.C.; PEREIRA-JUNIOR, E.B. Palma forrageira: Adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.4, p.27-37, 2010.

PEREIRA, A.V.; ALMEIDA, T.C. de.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; GARRIDO, L.H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v.31, n.2, p.119-124, 2009.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.6, n.11, p.1720–1731, 2011.

RIBEIRO, E.M. de. O.; SILVA, N.H. da.; LIMA-FILHO, J.L. de.; BRITO, J.Z. de.; SILVA, M. da. P.C.da. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.30, v.4, p.933-939, 2010.

RODZIEWICZ, P.; SWARCEWICZ, B.; CHMIELEWSKA, K.; WOJAKOWSKA, A.; STOBIECKI, M. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.1, p.1-19, 2014.

RUFINO, M. do. S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S. de.; MORAIS, S.M. de.; SAMPAIO, C. de. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.P.; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{•+}**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 4p. (Comunicado Técnico, 128).

SANTOS-ZEA, L.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDIVAR, S.O. Comparative analyses of total phenols, antioxidant activity, and flavonol glycoside profile of cladode flours from different varieties of *Opuntia* spp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.7054-7061, 2011.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E.; MORENO, D.A.; FERRENES, F.; RUBIO-WILHELMI, M. del. M.; RUIZ, J.M. Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: Changes on phenolic metabolites and related enzymes. **Phytochemistry**, v.72, p.723-729, 2011.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E.; RUIZ, J.M.; FERRENES, F.; MORENO, D.A. Phenolic profiles of cherry tomatoes as influenced by hydric stress and rootstock technique. **Food Chemistry**, v.134, p.775-782, 2012.

SOARES, A.M. dos. S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.1, p.9-19, 2007.

SILVA, F. de. A.S.; AZEVEDO, C.A.V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. DOI: 10.13031/2013.29066.

SOARES, B.S.A. **Obtenção e caracterização do extrato nebulizador da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e avaliação da sua atividade antimicrobiana e fotoprotetora.** 2012. 23p. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.

TAVARINI, S.; GIL, M. I.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; BUENDIA, B.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; DEGL'INNOCENTI, E. Effects of water stress and rootstocks on fruit phenolic composition and physical/chemical quality in Suncrest peach. **Annals of Applied Biology**, v.158, n.2, p.226–233, 2011.

VIZCAINO, R.L.M.; MENDOZA, D.M.; ALCOCER, M.S.P.; HERNANDEZ, R.; GONZALEZ, A.M.; CONTRERAS, A.M.V. Evaluación química del extracto total etanólico de las hojas y corteza fresca de *Muntingia calabura* (Elaeocarpaceae). **Scientia et Technica**, v.33, p.455-456, 2007.

YAHIA, E.M.; MONDRAGON-JACOBO, C. Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). **Food Research International**, v.44, p.2311-2318, 2011.

ZHONG, X-K.; JIN, X.; LAI, F-Y.; LIN, Q-S.; JIANG, J-G. Chemical analysis and antioxidant activities in vitro of polysaccharide extracted from *Opuntia ficus indica* Mill. cultivated in China. **Carbohydrate Polymers**, v.82, p.722-727, 2010.

CAPÍTULO VI

Diversidade genética e perfil químico sazonal através de RMN de ^1H e atividade citotóxica nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*

Diversidade genética e perfil químico sazonal através de RMN de ¹H e atividade citotóxica nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*

Resumo – A palma (*Opuntia* spp.) é uma cactácea conhecida por apresentar compostos bioativos que atuam na prevenção de várias doenças, principalmente câncer. Ademais, a palma é uma planta muito utilizada na região semiárida por ser considerada uma forrageira de grande importância para a alimentação animal, notadamente na estação seca. Os objetivos do estudo foram caracterizar o perfil químico e diversidade genética, através de ensaios cromáticos e RMN ¹H, utilizando técnicas de análise multivariada, e avaliar o potencial citotóxico de variedades de palma dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região Semiárida do Brasil nas estações seca e chuvosa. No estudo da prospecção química e atividade citotóxica foram utilizados extratos etanólicos brutos de cladódios das variedades (IPA-100003, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200008, IPA-200149 e IPA-200016). A atividade citotóxica foi avaliada pelo método MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difenil brometo de tetrazolina], contra HCT-116 (côlon retal humano), SF-295 (glioblastoma humano) e OVCAR-8 (ovário humano). O grupo de substâncias químicas que mais se destacam são os carboidratos e substâncias glicosiladas, lipídeos (ácidos graxos e esteroides) e compostos fenólicos (flavonoides), que variam tanto entre as variedades botânicas estudadas quanto entre os períodos de coleta. A análise dos espectros de RMN de ¹H das variedades de palma pelos métodos de análise multivariada constata a diversidade genética entre os materiais nas duas estações, seca e chuvosa. O extrato etanólico bruto (50 µg.mL⁻¹) apresenta pouco efeito inibidor do crescimento sob as linhagens de células de câncer analisadas. A atividade citotóxica de cladódios de palma é atribuída aos compostos fenólicos em especial aos flavonoides.

Termos para indexação: análise de alimento, anticâncer, compostos fenólicos, flavonoides, forrageira, semiárido

**Genetic diversity and seasonal chemical profile through ^1H NMR and cytotoxic activity
in the genera *Opuntia* and *Nopalea***

Abstract – The cactus pear (*Opuntia* spp.) is a cactaceous known to have bioactive compounds that act in the prevention of various diseases, especially cancer. Furthermore, the cactus pear is a plant widely used in semiarid region by be considered a forage of great importance for animal feed, especially in the dry season. The aim of study was characterize the chemical profile through of chromatic test and RMN ^1H and evaluate the cytotoxic potential of varieties of cactus pear genera *Opuntia* and *Nopalea* cultivated in Semiarid region of Brazil in dry and rainy season. In study of chemical prospecting and cytotoxic were utilized extract crude ethanol of cladodes of varieties (IPA-100003, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200008, IPA-200149 e IPA-200016). The cytotoxic activity was evaluated by MTT [3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide], method against HCT-116 (human colorectal colon), SF-295 (human glioblastoma) and OVCAR-8 (human ovarian). The group of chemicals that stood out were the carbohydrates and glycosylated substances, lipids (fatty acids and steroids) and phenolic compounds (flavonoids), which varied both among botanical varieties studied and among collection periods. Depending on the strain of cancer cells analyzed, the ethanol extract crude ($50 \mu\text{g.mL}^{-1}$) has little or no inhibitory effect on growth. The cytotoxic activity of cladodes palm can be attributed to phenolic compounds especially the flavonoids.

Index terms: analysis of food, anticancer, phenolic compounds, flavonoids, forage, semiarid

6.1 Introdução

A palma dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* são amplamente cultivadas na região Semiárida do Nordeste do Brasil, e representam uma importante opção de produção de forragem na época seca. Estima-se que a área cultivada no Brasil alcança cerca de 550.000 ha. Essa região é caracterizada por apresentar temperatura média superior a 30 °C, alto índice de evaporação anual, superior a 2000 mm, e média anual de chuvas inferior a 750 mm, concentrada em um único período de 3 a 5 meses, além disso, alguns anos a estiagem é prolongada, resultando no fenômeno das secas (ARAÚJO *et al.*, 2005; MEDEIROS *et al.*, 2005).

A palma por ser uma cactácea e ter mecanismos morfofisiológicos que permitem absorver água de pequenas precipitações e reduzir a perda de água pela transpiração é adaptada às regiões áridas e semiáridas, onde a água é fator limitante a produção agropecuária. Por essa razão a cultura representa uma alternativa viável de renda para os habitantes dessas regiões na época seca, que tem na agropecuária sua subsistência (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Devido o aumento das zonas áridas e semiáridas e a redução dos recursos hídricos no mundo, as cactáceas estão ganhando importância na alimentação humana e animal, medicina, na indústria de cosméticos e farmacêuticos (SHEDBALKAR *et al.*, 2010).

A espécie *Opuntia ficus indica* é conhecida por ser uma fonte importante de compostos bioativos, como betalaínas, polifenóis, carotenoides, vitamina C e minerais, e tem sido considerada como uma planta que previne doenças, por apresentar atividade antioxidante, anticancerígena, neuroprotetora, atividade antiproliferativa, além de ser utilizada no tratamento de gastrite, hiperglicemia, arteriosclerose, diabetes, inflamações e dores (MORALES *et al.*, 2012).

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma poderosa ferramenta analítica na caracterização de materiais heterogêneos de fontes naturais. Dentre os principais elementos que compõem as fontes naturais, os isótopos de ^1H , ^{13}C e ^{31}P são os mais utilizados no estudo por serem os elementos mais abundantes na natureza e pela sensibilidade de seus núcleos. Assim a técnica de RMN de alta resolução como ^1H é uma alternativa viável no estudo de compostos orgânicos devido à simplicidade e a importância das informações geradas (IULIANELLI; TAVARES, 2011).

Por apresentar uma grande diversidade genética nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, com cerca de 300 espécies (MONDRAGÓN-JACOBO; PÉREZ-GONZÁLEZ, 2001), existe a necessidade de se caracterizar as variedades cultivadas no Brasil a fim de se obter informações nutricionais e propriedades bioativas. Assim, os objetivos do estudo foram caracterizar o perfil

químico e diversidade genética, através de ensaios cromáticos e RMN ^1H , utilizando técnicas de análise multivariada, e avaliar o potencial citotóxico de variedades de palma dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região Semiárida do Brasil nas estações seca e chuvosa.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Material vegetal

Na pesquisa foram utilizados cladódios das variedades de palma forrageira, com três anos de idade, coletadas na estação experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizado no município de Arcoverde, Estado de Pernambuco, Brasil. Os materiais utilizados estão listados na Tabela 6.1.

Os cladódios secundários e terciários de cada variedade foram coletados de seis plantas, as 8:00 horas da manhã no dia 19 de fevereiro de 2013 (período seco) e no dia 10 de maio de 2013 (período chuvoso). Após a coleta o material foi limpo, cortado em pequenos pedaços (2 a 3 cm de comprimento) e secos em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, onde permaneceu por 72 horas, até peso constante. O material seco foi triturado em moinho tipo Willey® e acondicionados em potes plásticos vedados.

Tabela 6.1. Variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, utilizadas no estudo e cultivadas no estado de Pernambuco, Brasil

Nº	Variedades	Espécie	Nome vulgar
1	IPA-100003	<i>Opuntia ficus indica</i>	IPA-20
2	IPA-200016	<i>Opuntia stricta</i>	Orelha de Elefante Mexicana
3	IPA-200008	<i>Opuntia atropes</i>	F-08
4	IPA-100004	<i>Nopalea cochenillifera</i>	Miúda
5	IPA-200021	<i>Nopalea cochenillifera</i>	F-21
6	IPA-200205	<i>Nopalea cochenillifera</i>	IPA-Sertânia
7	IPA-200149	<i>Opuntia larreri</i>	-

6.2.2 Extração etanólica

A extração do material triturado (10 g) foi realizada com etanol 95% a temperatura ambiente, cobrindo-se toda a amostra com o solvente. A extração foi obtida exaustivamente, onde as amostras ficaram em contato com o solvente durante oito dias, sendo agitados diariamente, renovando-se o solvente extrator a cada dois dias. Após esse período, os extratos foram filtrados e concentrados utilizando um evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, obtendo-se os extratos de etanol bruto, e mantidos em frascos de vidro hermeticamente fechados em temperatura ambiente (22 °C) até sua utilização (VIZCAINO *et al.*, 2007).

6.2.3 Prospecção química

Um miligrama de cada amostra (extrato etanólico bruto) foi utilizado para a identificação das principais classes de compostos químicos, empregando-se os protocolos descritos por Matos (2009) e Desoti *et al.* (2011). A intensidade da cor e/ou o aparecimento de um precipitado na realização das reações químicas foram interpretados como respostas aos ensaios

Os alcaloides foram detectados pelo método de precipitação, usando-se os reativos de *Bouchardat* (A), *Mayer* (B), *Dragendorf* (C) e *Bertrand* ou ácido sílico-túngstico (D); os esteroides foram detectados pela reação de *Liebermann-Burchard*; os taninos pelos métodos de precipitação com sais de ferro e gelatina; os flavonoides detectados pelas reações de *Shinoda* e *Taubouk*; as saponinas pela agitação do extrato aquoso com formação de espuma persistente (DESOTI *et al.*, 2011).

6.2.4 Espectros de RMN de ¹H

Os espectros de RMN de ¹H dos extratos etanólicos brutos foram obtidos em espectrômetro Oxford® NMR 200 MHz. Para a análise do núcleo de ¹H das amostras foi preparada soluções utilizando aproximadamente 20 mg do extrato e 0,6 mL de metanol deuterizado (99,95%) como solvente. As amostras foram colocadas em tubos de RMN de cinco mm de diâmetro e posteriormente na sonda de cinco mm. Os parâmetros de aquisição típicos incluíram frequência de observação de 200,0 MHz, tempo de aquisição 4,0 segundos, janela espectral de 3200,0 Hz, largura do pulso 0,0 µs, número de acúmulos (410), intervalo entre pulsos 1,0 segundo. Os espectros foram processados pelo programa MestReNova® versão 6.1.0 e os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (IULIANELLI; TAVARES, 2011; PRESTES *et al.*, 2012).

6.2.5 Determinação da atividade citotóxica

A avaliação do efeito citotóxico dos extratos etanólicos brutos em células tumorais humanas foi realizada pelo Teste do MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difenil brometo de tetrazolina], em triplicata. As linhagens de células tumorais OVCAR-8 (ovário humano), HCT-116 (cólon retal humano) e SF-295 (glioblastoma humano), usadas neste estudo foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (USA), onde foram cultivadas em meio RPMI® 1640,

suplementados com soro fetal bovino (10%) e antibiótico (1%), mantidas em estufa climatizada à temperatura (37 °C) e CO₂ (5%).

As células foram distribuídas em placas de 96 poços nas seguintes densidades: 0,1 x 10⁶ células.mL⁻¹ (OVCAR-8 e HCT-116) e 0,7 x 10⁵ células.mL⁻¹ (SF-295). Os extratos etanólico bruto dos cladódios das variedades de palma foram diluídas em DMSO puro estéril, na concentração 50 µg.mL⁻¹, e adicionado aos poços, onde foram mantidos por 72 horas em estufa climatizada à temperatura (37 °C) e CO₂ (5%). Após o período, as placas foram centrifugadas (1500 rpm/15 min), e o sobrenadante descartado. Cada poço recebeu 150 µL da solução de MTT (0,5 mg/mL) e a placa foi mantida por 72 horas na estufa climatizada. Ao término do período, as placas foram novamente centrifugadas (3000 rpm/10 min), o sobrenadante descartado e o precipitado suspenso em 150 µL de DMSO. A quantificação do sal reduzido nas células vivas foi realizada em espectrofotômetro de placas a 595 nm (MOSMANN, 1983).

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas: amostra sem atividade (SA), com pouca atividade (PA, inibição de crescimento celular variando de 1 a 50%), com atividade moderada (MO, inibição de crescimento celular variando de 50 a 75%) e com muita atividade (MA, inibição de crescimento variando de 75 a 100%).

6.2.6 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso, com sete tratamentos, representados pelas variedades, com três repetições. As parcelas experimentais foram constituídas por duas plantas. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em média ± desvio padrão utilizando o programa Excel da Microsoft Office® 2010.

A diversidade genética entre as variedades foi estimada utilizando a medida de similaridade expressa pelo índice de Jaccard, segundo Cruz *et al.* (2012). Realizou-se o agrupamento pelo método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), método de Otimização de Tocher (RAO, 1952) e método de Análise de Componentes Principais (CRUZ *et al.*, 2012). As análises desses dados foram realizadas com o auxílio do programa estatístico GENES® - Aplicativo Computacional em Genética e Estatística (CRUZ, 2001).

6.3 Resultados e Discussão

6.3.1 Prospecção química

Os resultados obtidos na triagem fitoquímica de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, no período seco e chuvoso encontram-se na Tabela 6.2. Dos testes realizados para a identificação das principais classes (alcaloides, esteroides, taninos, flavonoides e saponinas) presentes nos cladódios da palma, foi detectada a presença de flavonoides e esteroides em todas as variedades nos dois períodos estudados (seco e chuvoso). A presença de tanino foi detectada na variedade IPA-200149 no período seco, e nas variedades IPA-100003, IPA-200016, IPA-200205 no período chuvoso.

Tabela 6.2. Perfil fitoquímico de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira, dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, nos períodos seco e chuvoso

Variedades	Alcaloides				Esteroides (Liebermann- Burchard)	Taninos		Flavonoides		Saponinas
	A	B	C	D		Gelatina 0,5%	FeCl ₃ 2%	Fita- magnésio (Shinoda)	Fluorescência (Taubouk)	Espuma
Período Seco										
IPA-100003	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200016	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200008	-	-	-	-	+	-	-	++	++	-
IPA-100004	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
IPA-200021	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200205	-	-	-	-	+	-	-	+	++	-
IPA-200149	-	-	-	-	+	+	+	++	+++	-
Período Chuvoso										
IPA-100003	-	-	-	-	+	-	+	+++	+++	-
IPA-200016	-	-	-	-	+	+	+	+++	+++	-
IPA-200008	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	-
IPA-100004	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	-
IPA-200021	-	-	-	-	+	-	-	+++	+++	-
IPA-200205	-	-	-	-	+	-	+	+++	+++	-
IPA-200149	-	-	-	-	+	-	-	++	++	-

Legenda: (A) *Bouchardat*, (B) *Mayer*, (C) *Dragendorf*, (D) *Bertrand* ou ácido sílico-túngstico; “+++” (intensidade alta), “++” (intensidade média), “+” (intensidade baixa), “-” (reação negativa)

A presença de flavonoides e esteroides em cladódios de palma forrageira (*Opuntia ficus indica*) foi citada por Brás (2011) e Soares (2012), a presença de taninos nos cladódios de palma foi relatada por Mendez *et al.* (2012) estudando *Opuntia ficus indica*, e por Bari *et al.* (2012), pesquisando *Opuntia monacantha*, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho.

Os resultados do perfil fitoquímico de variedades de palma para os flavonoides e taninos indicam haver diferença entre as variedades e períodos de coleta, já que a intensidade das respostas das amostras foi diferente, comparando-as aos seus referidos brancos (reagentes com ausência dos extratos), além disso, dependendo do período de coleta a classe de fitoquímico foi detectada ou não (Tabela 6.2). A resposta aos flavonoides, para os dois métodos de investigação

Shinoda (fita-magnésio) e *Taubouk* (fluorescência), foi mais intensa no período chuvoso para todas as variedades, com exceção do IPA-200149, cuja variedade se destacou no período seco quando se utilizou o segundo método (*Taubouk*).

6.3.2 Espectros de RMN de ^1H

O deslocamento químico observado no espectro de RMN de ^1H do extrato etanólico bruto das variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* no período seco e chuvoso encontra-se na Tabela 6.3.

Os sinais de ^1H localizados entre 0,8 a 3,0 ppm são referentes aos lipídeos (diterpenos, ácidos graxos e esteroides) presentes na amostra; os sinais entre 3,2 e 5,0 ppm são referentes à heteroátomos (OH, NH, SH, PH, BH) das substâncias glicosiladas; os sinais entre 5,0 e 5,8 são referentes aos ^1H de carbono anomérico, referentes aos carboidratos; e a faixa entre 6,0 e 8,0 ppm refere-se aos ^1H ligados ao anel aromático, estão inclusos os compostos fenólicos em geral e a faixa de 9 a 10 ppm refere-se ao ^1H de aldeído (IULIANELLI; TAVARES, 2011; RIBEIRO; SOUZA, 2007).

O perfil dos espectros de RMN de ^1H das variedades de palma sinaliza para divergência de substâncias entre os grupos de compostos químicos presentes nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, tanto dentro da mesma espécie quanto entre espécies, e época de coleta do material (Tabela 6.3; Figuras 6.1 a 6.7).

No período seco, no gênero *Opuntia* (V1, V2, V3, V7), observa-se a presença de ácidos graxos, esteroides, carboidratos e compostos fenólicos (Figuras 6.1A a 6.4A). No entanto, na variedade V2 não se detecta a presença de compostos fenólicos (Figura 6.2A). No gênero *Nopalea* (V4, V5 e V6) consta a existência de carboidratos, ácidos graxos, esteroides, mas não foi detectada a presença de compostos fenólicos (Figuras 6.5A a 6.7A).

No período chuvoso, no gênero *Opuntia* (V1, V3, V7), observa-se a presença de ácidos graxos, esteroides, carboidratos e compostos fenólicos (Figuras 6.1B, 6.3B e 6.4B). Na variedade V2 não foram detectados ácidos graxos e compostos fenólicos, somente se verifica a presença de carboidratos (Figura 6.2B). No gênero *Nopalea* (V4, V5 e V6) consta a existência de carboidratos, ácidos graxos, esteroides e compostos fenólicos. No entanto, na variedade V4 não foram percebidos a existência de ácidos graxos (Figura 6.5B a 6.7B).

A não detecção de compostos fenólicos, esteroides e ácidos graxos no extrato de algumas variedades de palma, provavelmente, se deve a limitada potência do equipamento, além de, possíveis interferências entre as substâncias presentes na amostra, uma vez que, as

análises foram realizadas em extrato etanólico bruto. Nessas mesmas amostras foram detectadas a presença de compostos fenólicos, esteroides e ácidos graxos em todas as variedades nos dois períodos estudados (seco e chuvoso) na triagem fitoquímica (Tabela 6.2).

As variedades de palma estudadas apresentam o nível de carboidratos, substâncias glicosídicas e compostos fenólicos mais expressivos no período chuvoso. No entanto, os ácidos graxos e esteroides nesse período são menos expressivos, comparado ao período seco (Figuras 6.1 e 6.7).

Ribeiro *et al.* (2010), estudando os carboidratos (galactose, xilose, arabinose, glicose, frutose, ramnose, sacarose e ácido urônico) presentes nos cladódios de palma forrageira (*Opuntia* spp.), variedades (gigante, redonda, copena F1 e clone 20), cultivadas na região nordeste do Brasil, relataram variações na quantidade de açúcares totais e composição entre os genótipos, ordem do cladódio, e estação de coleta do material. Os pesquisadores relataram que os teores de carboidratos totais nos cladódios de palma forrageira (gigante e clone-20) foram superiores na estação chuvosa, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho. No entanto, nas variedades (redonda e copena F1) o teor de carboidratos totais foram superiores na estação seca.

Sánchez-Rodríguez *et al.* (2011 e 2012), estudando a influência do estresse hídrico no perfil de compostos fenólicos relataram diferenças entre o teor e a composição de compostos fenólicos, flavonoides e seus glicosídeos entre variedades de tomate, dependendo da disponibilidade de água a que as mesmas foram submetidas, alguns genótipos apresentam o teor e composição de compostos fenólicos, flavonoides e seus glicosídeos superiores sob irrigação, noutros os teores eram maiores em condições de estresse hídrico. No geral, esses autores relatam que os compostos fenólicos totais nas variedades são superiores sob regime de irrigação, apoiando os resultados expostos neste trabalho.

El-Kaoua *et al.* (2006), pesquisando a influência do déficit hídrico no teor de ácidos graxos em trigo (*Triticum aestivum* L.), variedades (Nasma e Tigre), relataram que o estresse hídrico altera a quantidade e composição dos ácidos graxos. O estresse hídrico reduziu o conteúdo de ácidos graxos total nas duas variedades estudadas. Essa redução foi mais drástica para os insaturados, ácido octadecatrienoico (18:3), paralelamente houve o aumento na porcentagem de ácidos graxos saturados (16:0 e 18:0). Além disso, a composição lipídica (galactolipídios e fosfolipídeos) foi reduzida pelo estresse hídrico em ambas as variedades. Entretanto, houve aumento nos lipídeos neutros (diacilglicerol e triacilglicerol) sob estresse hídrico. Os autores consideraram a síntese de lipídeos neutros como mecanismo de ação contra

o estresse hídrico. Ademais, os ácidos graxos livres, liberados durante o déficit hídrico por ação de lipases sobre os lipídeos polares, pode ser armazenado em triacilgliceróis para evitar a oxidação por radicais livres e formas ativas de oxigênio. Os autores ainda relatam que a redução de ácido octadecatrienoico (18:3) em plantas de trigo está envolvida na formação de metil jasmonato (Me-JA) através do ácido-12 oxofitodienoico (12-OPDA) nos cloroplastos. O (Me-JA) é considerado um regulador de crescimento e desenvolvimento das plantas, e junto com outras moléculas ciclopentanona, principalmente o ácido jasmônico (JA) e seus conjugados de aminoácidos, influenciam diversos processos metabólicos envolvidos com a tolerância ao estresse hídrico. Ademais, Bourgo *et al.* (2010), investigando o teor e composição de ácidos graxos e óleos essenciais em Cumino preto (*Nigella sativa*) sob estresse salino relataram que tanto o conteúdo, quanto a composição dos ácidos graxos e óleos essenciais foram modificados pelo estresse salino. O conteúdo de ácidos graxos totais foi reduzido, no entanto a porcentagem de ácido linoléico (18:2) foi aumentada. Além disso, o conteúdo de óleos essenciais aumentou sob condições de estresse salino. O aumento detectado nas substâncias lipídicas na palma forrageira no período seco, provavelmente, se deve ao aumento das ceras, cutinas, suberinas, triterpenos, lipídeos neutros, óleos essenciais, carotenoides, tocoferóis, ABA, jasmonato, além do acúmulo dos ácidos graxos, palmítico, linoléico e linolênico, já que essas moléculas são aumentadas sob déficit hídrico (BUCHANAN *et al.*, 2009).

Nas regiões áridas e semiáridas a disponibilidade de água é fator limitante ao crescimento e desenvolvimento das plantas e seres vivos em geral. No entanto, as plantas desenvolveram estratégias de adaptação para sobreviverem nesses ambientes, graças a mudanças fisiológicas, bioquímicas e morfológicas. Dentre as principais adaptações de resistência à seca podem ser citados: escape (fuga), retardo da desidratação e tolerância (FERNANDES *et al.*, 2009).

O retardo da desidratação consiste em manter o turgor e volume celular, tanto pela absorção de água (aumento da densidade e profundidade do sistema radicular, ou aumento da condutância da água nas raízes e no caule); quanto pela redução da transpiração, através do aumento da resistência estomática (abertura e fechamento dos estômatos), modificações morfológicas na epiderme do limbo foliar e deposição de ceras (cutícula) na epiderme, redução da área foliar (ou até mesmo a queda das folhas) e da redução da radiação absorvida (FERNANDES *et al.*, 2009).

A tolerância consiste em manter o metabolismo com redução do potencial hídrico dos tecidos, devido principalmente ao acúmulo de solutos ou osmólitos compatíveis, tais como:

aminoácidos, carboidratos, polióis, compostos de amônio quaternário e sulfônico terciário. Essas moléculas são importantes na manutenção do turgor, bem como na estabilização de proteínas e membranas celulares. Além de contribuir para o equilíbrio redox, por eliminar espécies reativas de oxigênio (EROs), que afetam negativamente estruturas e metabolismo celulares (FERNANDES *et al.*, 2009; RODZIEWICZ *et al.*, 2014).

As EROs são formadas a partir da excitação do oxigênio atmosférico (O_2) que resulta na forma de oxigênio singlete (1O_2) ou pela transferência de um, dois ou três elétrons para O_2 formando, respectivamente, radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou radical hidroxila (HO^\cdot). Essas moléculas são tóxicas, pois, provocam peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, inibição enzimática e danos ao DNA e RNA causando disfunção celular, lesões necróticas e morte da célula (ROSA *et al.*, 2009).

As EROs são produzidas normalmente nos processos de fotossíntese e respiração das plantas. No entanto, o estresse hídrico e de temperatura elevada, as quais as plantas do semiárido estão diariamente expostas, provocam o aumento dessas moléculas. Assim, as plantas desenvolveram mecanismos para se protegerem dos danos que as EROs provocam produzindo moléculas antioxidantes (ROSA *et al.*, 2009; SILVEIRA *et al.*, 2009).

A eliminação de EROs é realizada por moléculas antioxidantes não enzimáticas, como glutathiona reduzida (GSH), ascobarto (AsA), flavonoides, cumarinas, alcalóides, ácidos fenólicos, aminoácidos não proteicos, sesquiterpenos, isopreno, tocoferóis, vitaminas (ácido ascórbico), pigmentos carotenoides, carboidratos, e enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD), glutathiona redutase (GR), glutathiona peroxiase (GPX), peroxirredoxina (PRXR), catalase (CAT), ascobarto peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR), polifenol oxidase (PPO) (AZEVEDO *et al.*, 2009; BARTWAL *et al.*, 2013; SOARES; MACHADO, 2007; ZHONG *et al.*, 2010).

O acúmulo de metabólitos primários contribui para a redução do potencial osmótico, auxiliando na manutenção do turgor em plantas expostas ao déficit hídrico. Os metabólitos primários como as enzimas (prolina, triptofano, fenilalanina, histidina), os carboidratos (sacarose, rafinose, frutose, maltose, trealoses, manitol, sorbitol, ribitol, inositol), o composto de amônio quaternário (glicina betaína) são acumulados em plantas expostas ao estresse hídrico e estão associados ao ajustamento osmótico das células (RODZIEWICZ *et al.*, 2014).

Os metabólitos secundários como os compostos fenólicos (fenilpropanoides, flavonoides, isoflavonoides, antocianinas, cumarinas, ligninas, taninos), terpenos (tocoferol, saponinas, ácido betulínico, carotenoides) e compostos nitrogenados (alcalóides,

glucosinolatos, ácido γ -amino butírico-GABA) são acumulados em plantas expostas ao estresse hídrico e contribuem tanto para o equilíbrio redox, por eliminar EROs, bem como por manter o turgor, e estabilizar proteínas e membranas celulares (BARTWAL *et al.*, 2013; RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; RODZIEWICZ *et al.*, 2014).

Assim, o armazenamento de carboidratos, substâncias glicosídicas e compostos fenólicos no período chuvoso servirá como moléculas, que atuarão contra o estresse hídrico no período seco (TAO *et al.*, 2015; ZHONG *et al.*, 2010). Além disso, o acúmulo de alguns ácidos graxos e esteroides no período seco também poderia contribuir na tolerância ao estresse hídrico (BOURGOU *et al.*, 2010; EL-KAOUA *et al.*, 2006; YEILAGHI *et al.*, 2012).

Tabela 6.3. Deslocamento químico observado no espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* no período seco e chuvoso

Hidrogênios	Deslocamentos químicos (ppm) das amostras de palma													
	Período Seco							Período Chuvoso						
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
^1H de lipídeos	0,86	1,13	0,86	0,89	0,86	0,89	0,86	1,27	1,26	0,86	1,28	1,26	0,68	0,83
	0,89	1,17	0,89	1,17	0,89	1,28	0,89	1,59		0,90	2,69	1,57	0,88	0,86
	1,02	1,20	1,13	1,28	1,01	2,15	1,13	2,04		0,97		2,03	0,99	0,94
	1,13	1,28	1,17	2,15	1,28		1,17			1,01		2,06	1,12	0,98
	1,17	2,15	1,20		1,59		1,20			1,28		2,27	1,27	1,24
	1,20		1,28		2,04		1,28			1,59		2,31	1,58	1,56
	1,23		1,59		2,07		1,59			1,77		2,34	2,03	2,01
	1,28		2,04		2,28		2,15			2,08			2,27	2,04
	1,59		2,32		2,30		2,32			2,29			2,31	2,21
	1,98				2,32					2,32			2,34	2,25
	2,04				2,77					2,58			2,76	2,29
	2,15									2,80				2,73
	2,27													2,76
	2,31													
	^1H ligado a heteroátomos	3,20	3,54	3,35	3,39	3,47	3,37	3,35	3,18	3,13	3,32	3,34	3,49	3,62
3,40		3,58	3,39	3,44	3,62	3,39	3,39	3,23	3,18	3,34	3,52	3,63	3,63	3,49
3,43		3,62	3,43	3,61	3,66	3,44	3,58	3,53	3,21	3,38	3,65	3,65	3,64	3,62
3,46		3,65	3,44	3,65	3,68	3,61	3,61	3,66	3,34	3,52	3,67	3,67	3,66	3,64
3,61		3,71	3,54	3,70	3,71	3,65	3,65	3,68	3,35	3,78	3,70	3,69	3,68	3,67
3,65		3,75	3,58	3,74	3,74	3,70	3,68	3,70	3,49	3,82	3,79	3,70	3,69	3,72
3,68		3,78	3,61	3,78	3,78	3,74	3,70	3,79	3,62	3,88	3,82	3,73	3,72	3,75
3,70		3,84	3,65	3,83	3,82	3,77	3,71	3,82	3,64	4,00	3,89	3,76	3,76	3,78
3,74		3,86	3,70	4,05	4,08	3,98	3,74	3,90	3,67	4,06	4,00	3,79	3,78	4,47
3,78		4,08	3,71	4,07	4,45	4,01	3,78	4,06	3,68	4,51	4,06	3,85	4,47	4,51
3,83		4,35	3,74	4,11		4,03	3,83	4,51	3,69	4,55	4,51	4,04	4,51	
3,98		4,39	3,78	4,44		4,05	4,07	4,55	3,73		4,55	4,47	4,62	
4,01		4,45	3,83	4,48		4,07	4,44		3,76			4,51		
4,05		4,49	4,07			4,44	4,48		3,79					
4,07		4,52	4,44			4,48			3,82					
4,12		4,59	4,48						3,86					
									4,04					
									4,09					
								4,37						
								4,47						
								4,51						
								4,52						
								4,59						
^1H ligado ao carbono anomérico	5,37	5,09	5,37	5,37	5,09	5,08	5,09	5,42	5,11	5,14	5,14	5,11	5,11	5,11
	5,39	5,11	5,39	5,39	5,11	5,10	5,10		5,13	5,16	5,16	5,13	5,13	5,13
	5,88	5,37			5,37	5,37	5,37		5,38	5,40	5,62	5,38	5,37	5,30
		5,39			5,39	5,39	5,39		5,39	5,42		5,40	5,39	5,37
		5,57			5,48				5,59	5,62				5,38
	5,59													
^1H ligado ao anel aromático	6,18	6,40	6,09	6,18			6,19	6,69	6,40	6,22	6,23	6,00	6,72	6,58
	6,19		6,17	6,19			6,20	6,70	6,41	6,42	6,33	6,30	7,39	6,59
	6,71		6,19	6,38			7,05	6,70		6,61	6,44	6,59	7,41	7,16
	6,78		6,38				7,06	6,71		6,63	6,73	6,60		7,39
	7,11		6,39				7,09	6,72		6,73	6,97	7,40		7,40
	7,13		6,41				7,13	6,73		6,91	7,34	7,41		7,56
	7,15		6,67					7,04		6,94	7,46			
	7,16		6,68					7,06		7,43	7,57			
			6,68					7,07		7,44	7,62			
			6,86					7,08		7,56	7,94			
			6,88					7,08		7,95	8,04			
			6,92					7,11		8,06				
			6,93					7,12						
			7,31					7,14						
			7,94					7,43						
			7,95					7,44						
			8,02											
			8,02											
		8,03												
		8,06												
		8,07												
^1H ligado ao aldeído								9,53	9,52	9,53	9,53	9,52	9,52	9,50

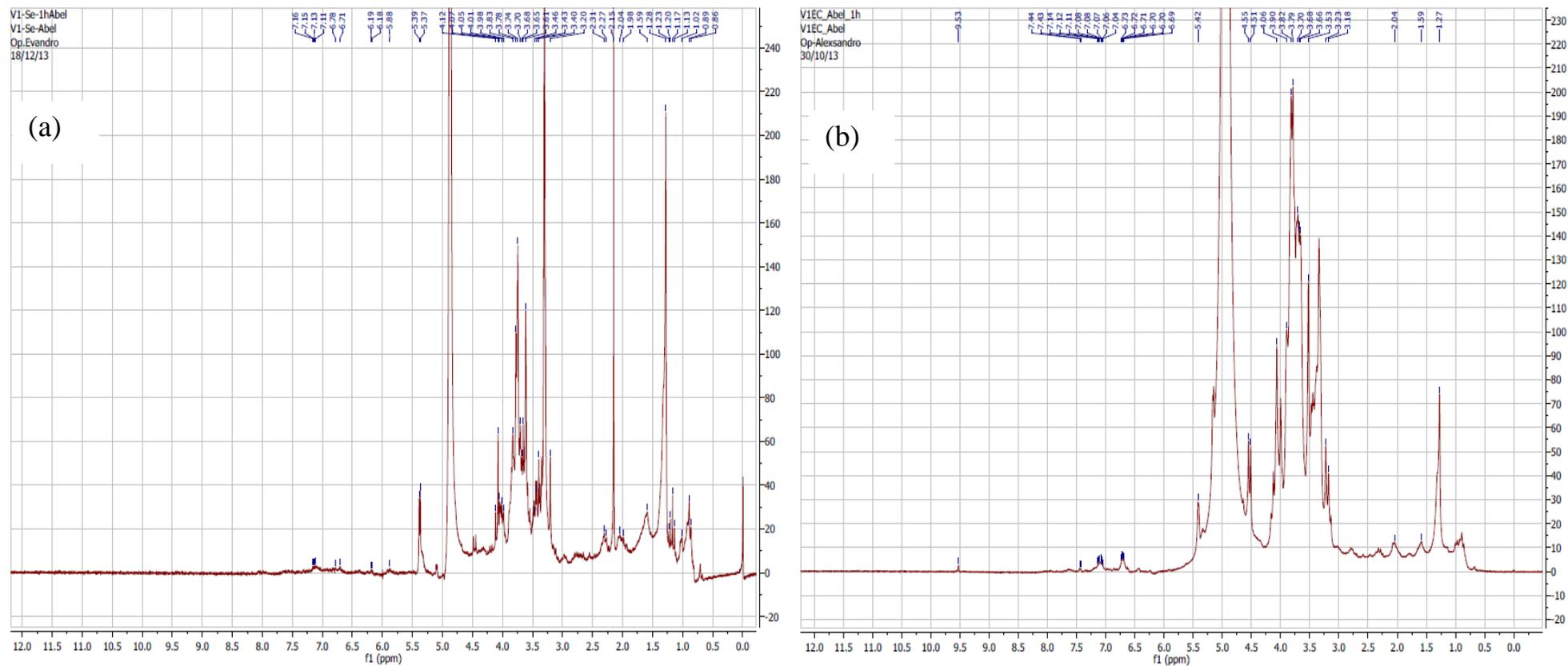


Figura 6.1. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-100003 (V1) (*O. ficus indica*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b)

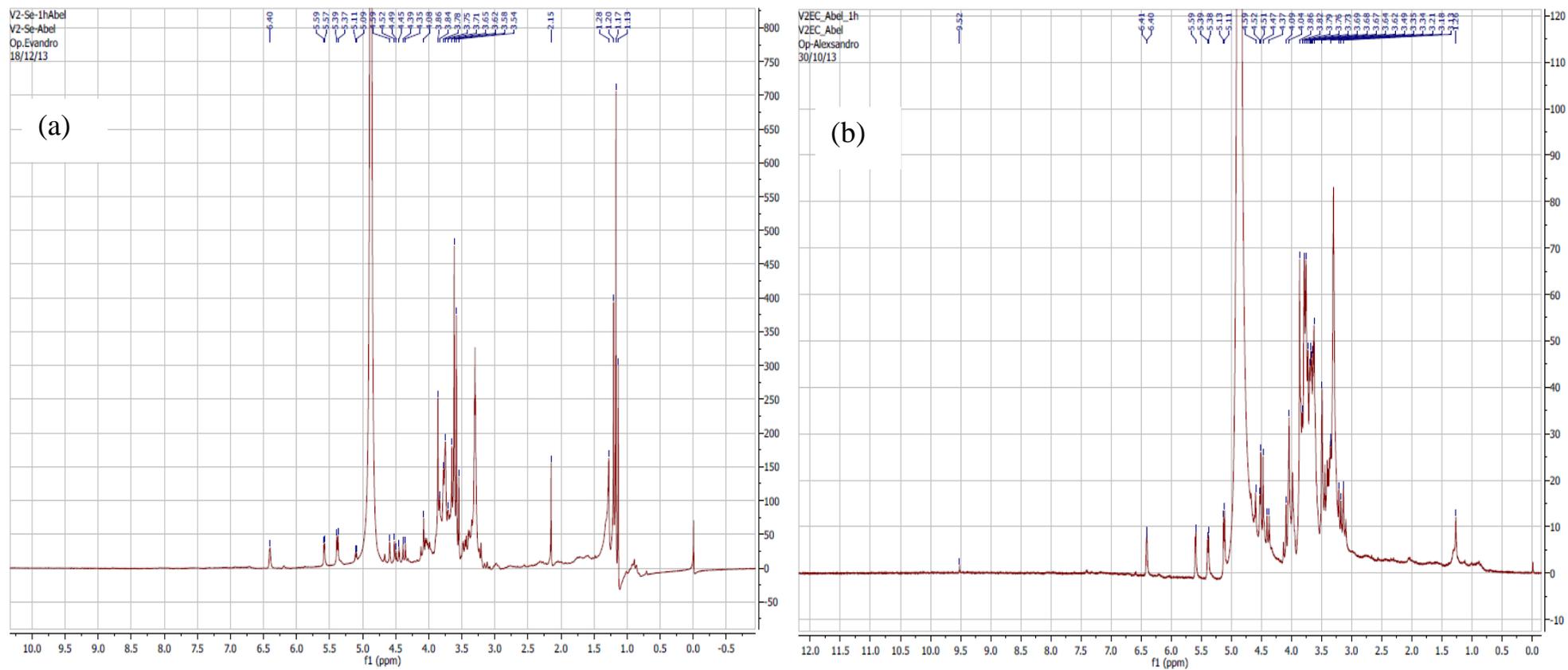


Figura 6.2. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200016 (V2) (*O. stricta*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b)

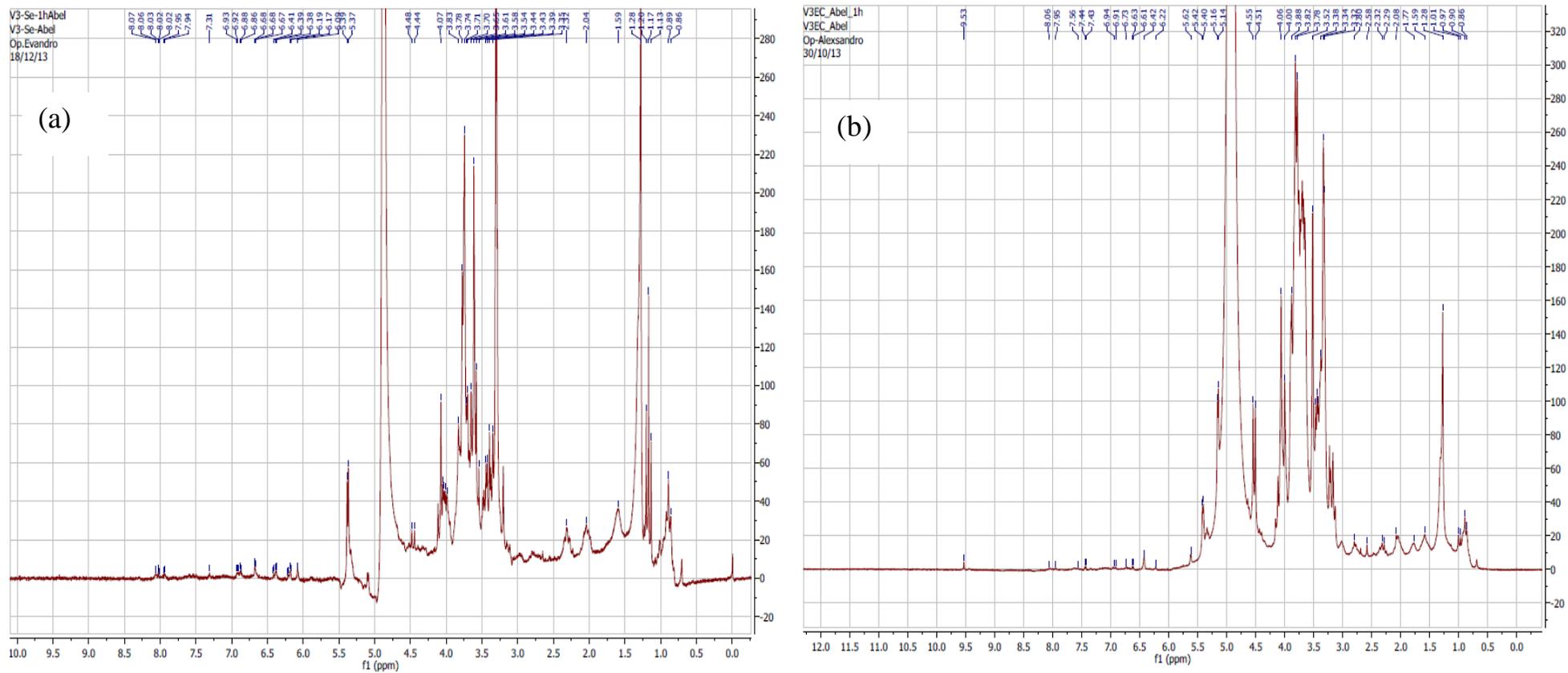


Figura 6.3. Espectro de RMN de ¹H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200008 (V3) (*O. atropes*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b)

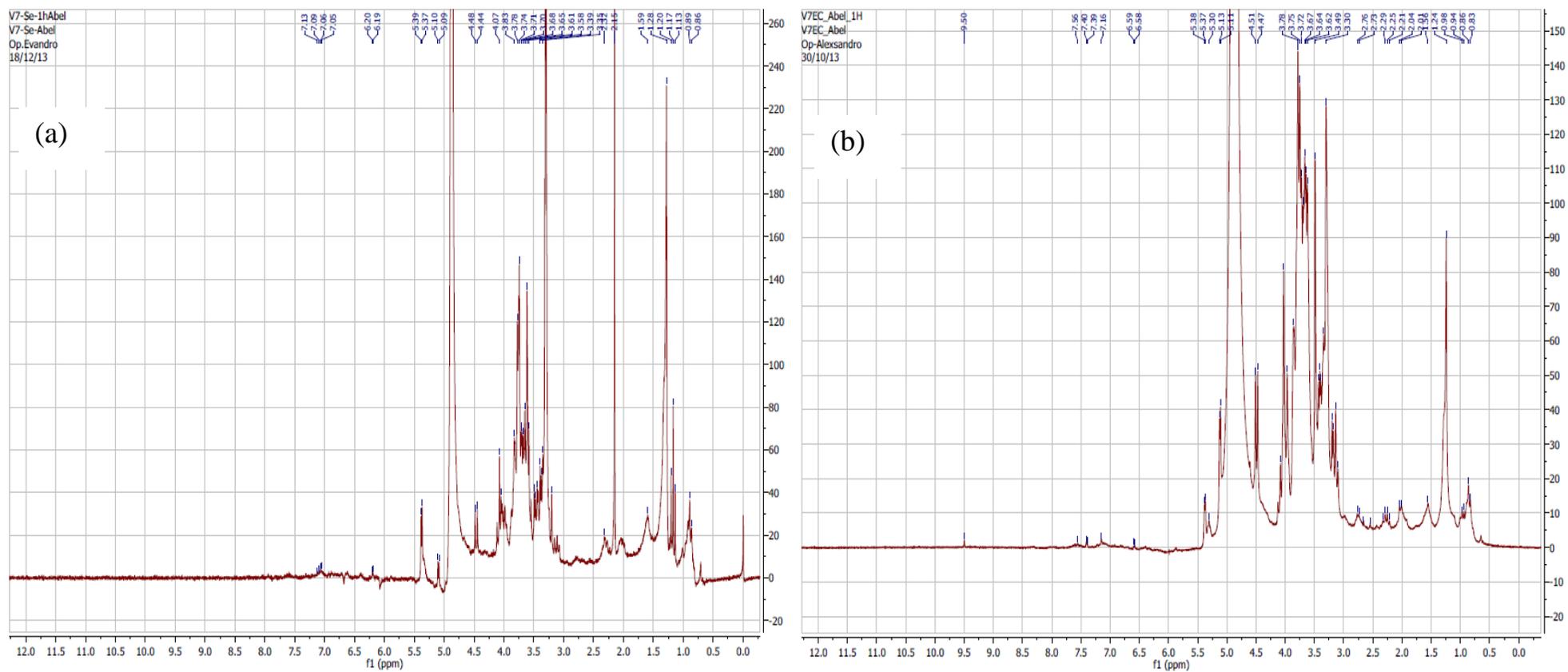


Figura 6.4. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200149 (*O. larreri*) (V7), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b)

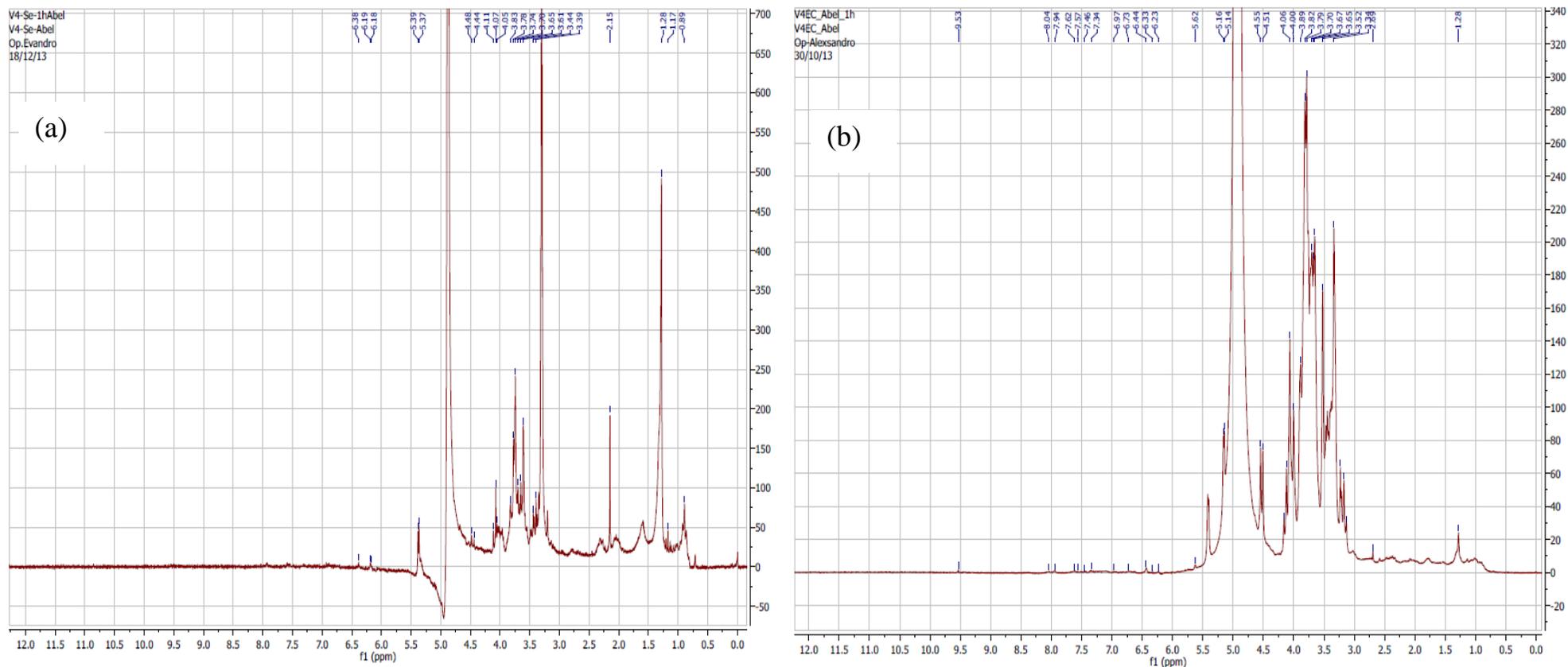


Figura 6.5. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-100004 (V4) (*N. cochenillifera*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b)

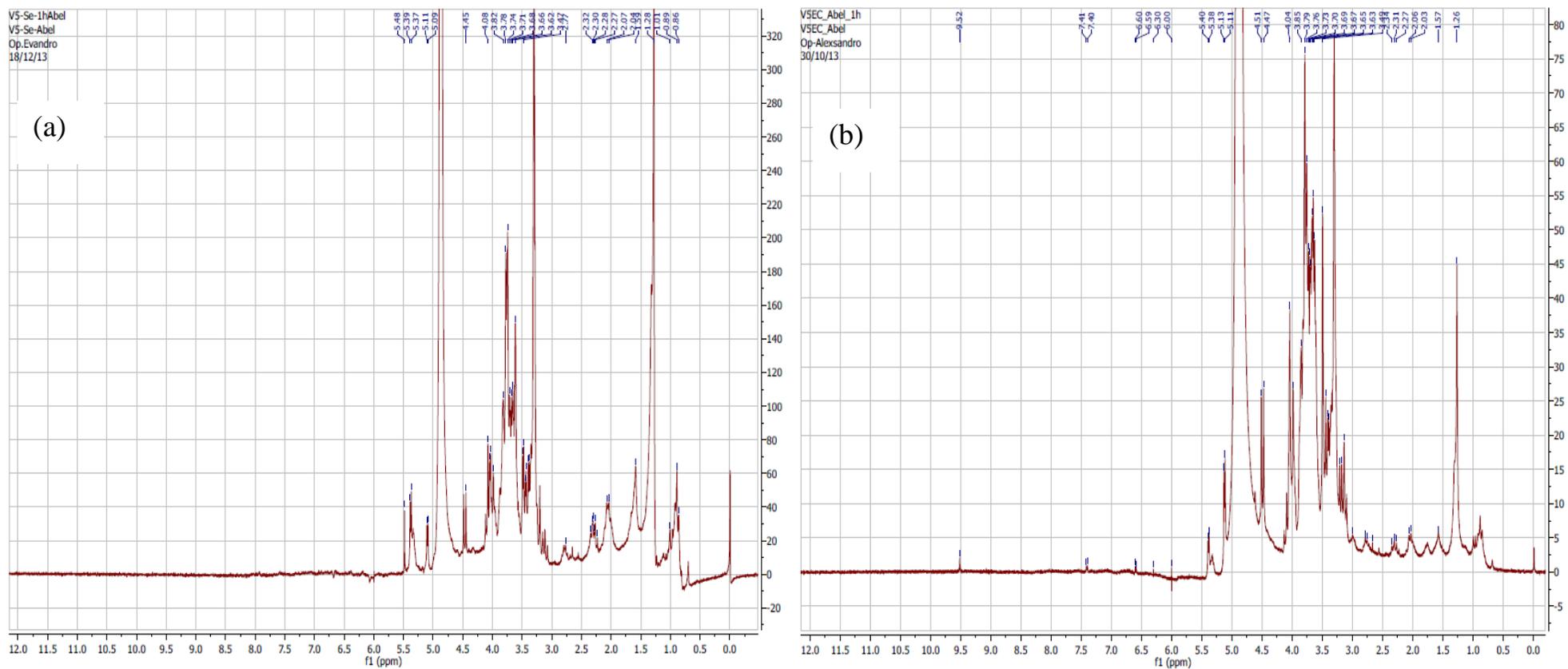


Figura 6.6. Espectro de RMN de ^1H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200021 (V5) (*N. cochenillifera*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b)

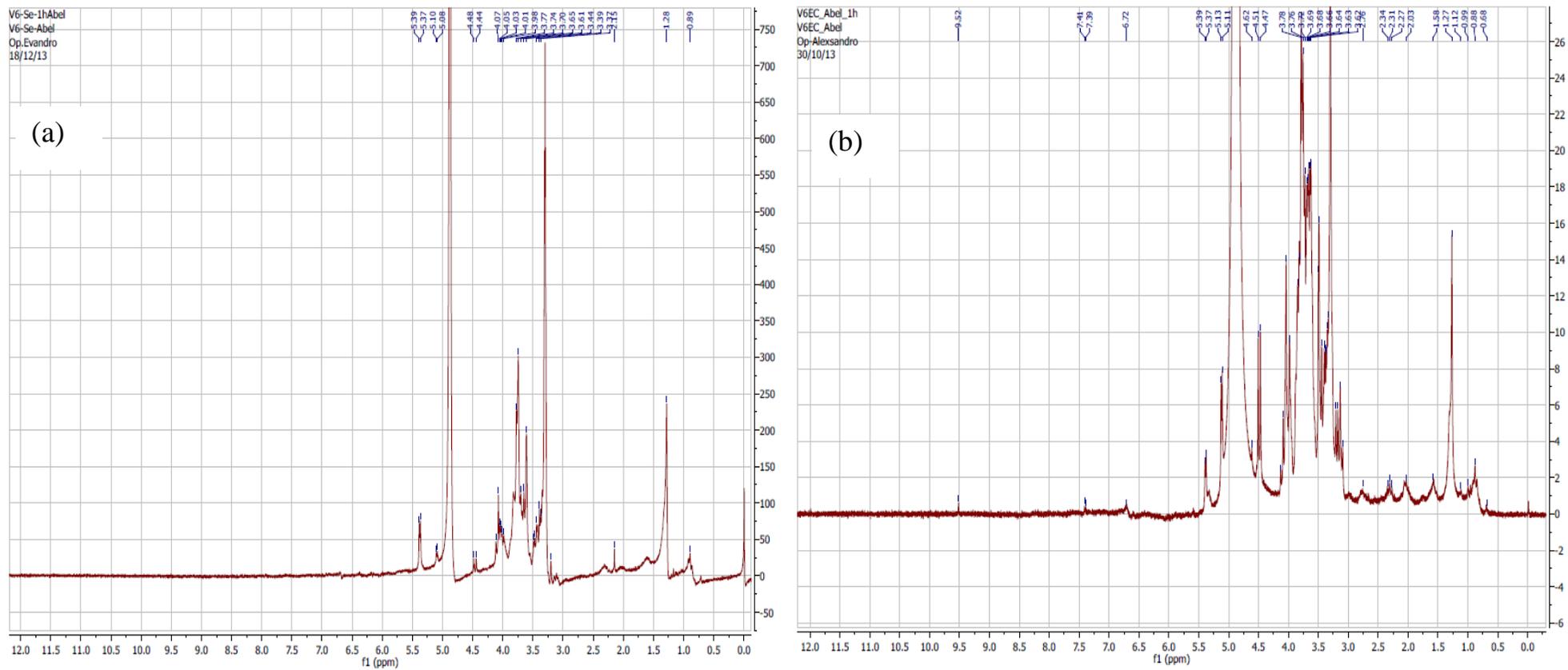


Figura 6.7. Espectro de RMN de ¹H de extrato etanólico bruto da variedade IPA-200205 (V6) (*N. cochenillifera*), de palma forrageira, coletada no período seco (a) e chuvoso (b)

6.3.3 *Diversidade genética através do espectro de RMN de ¹H*

A análise dos espectros de RMN de ¹H das variedades de palma pelos métodos de análise multivariada constatou diversidade genética entre os materiais nas duas estações, seca e chuvosa. De acordo com a técnica utilizada houve diferença na identificação de grupos de indivíduos similares nas duas estações (Tabela 6.4 e 6.5; Figuras 6.8 a 6.11).

Na estação seca, pelo método de agrupamento de otimização de Tocher, as variedades foram agrupadas em dois grupos distintos. O grupo I foi representado pelos genótipos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, e o grupo II foi representado pelo genótipo 7 (Tabela 6.4). Pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA, os genótipos foram agrupados em quatro grupos, considerando o corte de 69% da distância genética relativa, o grupo I representado pelos genótipos 4 e 5, grupo II pelos genótipos 1 e 2, o grupo III pelo 3 e 6, o grupo IV pelo 7 (Figura 6.8). Pelo método de agrupamento de ordenação por análise de componentes principais, o gráfico de dispersões dos escores, agrupou os genótipos em quatro grupos, o grupo I foi constituído pelos genótipos 4, 5, 6 e 7, o grupo II pelo genótipo 2, o grupo III pelo 1, e grupo IV pelo 3 (Figura 6.10).

Na estação chuvosa, o método de agrupamento de Tocher agrupou as variedades em cinco grupos distintos, o grupo I representado pelos genótipos 1 e 7, o grupo II pelos genótipos 3 e 5, o grupo III pelo 4, o grupo IV pelo 2, o grupo V pelo 6 (Tabela 6.5). O método de agrupamento UPGMA agrupou os genótipos em quatro grupos distintos, considerando o corte de 82% da distância genética relativa, o grupo I foi representado pelas variedades 1 e 7, o grupo II por 2, o grupo III por 4 e 6, o grupo IV por 3 e 5 (Tabela 6.9). O método de componentes principais agrupou as variedades em cinco grupos distintos, o grupo I representado pelas variedades 2, 5 e 6, o grupo II pelo 1, o grupo III pelo 7, o grupo IV pelo 3, o grupo V pelo 4 (Figura 6.11).

A análise dos componentes principais mostra que a utilização das três primeiras variáveis foi suficiente para explicar quase 71% e 67% da variação total obtida entre os sete genótipos avaliados na estação seca e chuvosa, respectivamente (dados não mostrados). Assim, uma descrição razoável da divergência genética dos genótipos poderá ser feita por essas componentes no plano bidimensional ou tridimensional. Segundo Silva e Padovani (2006) é necessário que as primeiras componentes principais acumulem pelo menos 70% da variação total para explicar a variabilidade manifestada entre os indivíduos, levando a interpretação do fenômeno com considerável simplificação das características no plano bidimensional ou tridimensional.

A análise de agrupamento (*cluster analysis*) identifica grupos de indivíduos similares após a estimação de uma matriz de dissimilaridade. Há vários métodos de agrupamento que se diferenciam pelo tipo de resultado e pelas diferentes formas de definir a proximidade entre indivíduos ou grupos formados. Em todos os casos, não se conhece *a priori*, o número de grupos a ser estabelecido, e diferentes métodos proporcionam diferentes resultados (CRUZ *et al.*, 2012).

Os métodos de agrupamento baseiam-se, principalmente, em métodos hierárquicos, de otimização e de ordenação. Nos hierárquicos, destaca-se o método da distância média entre grupos (UPGMA), onde os agrupamentos são identificados na forma de dendrogramas, dispostos em vários níveis e não leva em conta o número ótimo de grupos. Nos de otimização, destaca-se o algoritmo de Tocher, onde o objetivo é alcançar uma partição dos indivíduos que otimize (maximize ou minimize) alguma medida predefinida. Baseia-se na formação de grupos em que as distâncias dentro dos grupos sejam menores que as distâncias entre grupos, obtendo-se o número ótimo de grupos. Nos de ordenação, sobressai-se a técnica de análise de componentes principais que visa à redução na dimensionalidade das variáveis, de forma que a nova combinação de variáveis lineares não correlacionadas resultante, explique a estrutura de variância e covariância do conjunto de variáveis originais, resultando no agrupamento dos indivíduos, com base nas dispersões em relação aos eixos cartesianos (CRUZ *et al.*, 2012).

O uso de técnicas multivariadas na detecção da diversidade genética exige certo grau de estruturação nos dados. Diante disto, é importante que critérios diferentes de agrupamento sejam utilizados e que se considere como correta a estrutura consenso da maior parte deles, para que seja assegurado que o resultado obtido não seja um artefato da técnica utilizada (ARRIEL *et al.*, 2006; VIANA, 2013). Assim, considerando o consenso da maioria dos agrupamentos na estação seca, os genótipos 1 e 2; 4, 5 e 6; 3 e 6; foram considerados similares, e a variedade 7 considerada diferente das demais. Na estação chuvosa, as técnicas de análise multivariada foram divergentes em agrupar os genótipos similares, em consonância, as variedades 1 e 7, assim como, 3 e 5, foram consideradas similares. As variedades 4 e 2 foram classificadas diferentes das demais.

Tabela 6.4. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação seca, a medida de similaridade expressa pelo índice de Jaccard e o método de otimização de Tocher

Grupo	Variedades
I	4, 5, 2, 3, 6 e 1
II	7

Tabela 6.5. Agrupamento das sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação chuvosa, a medida de similaridade expressa pelo índice de Jaccard e o método de otimização de Tocher

Grupo	Variedades
I	1 e 7
II	3 e 5
III	4
IV	2
V	6

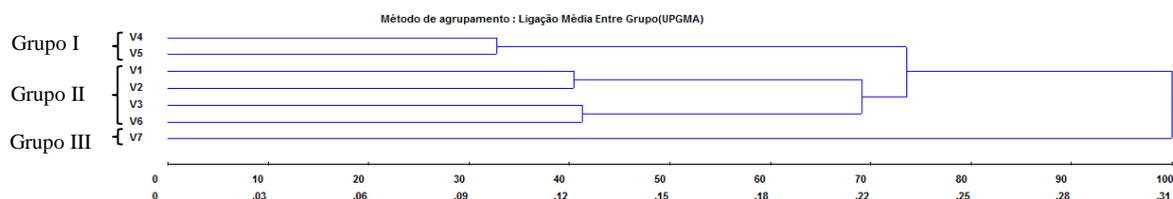


Figura 6.8. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação seca

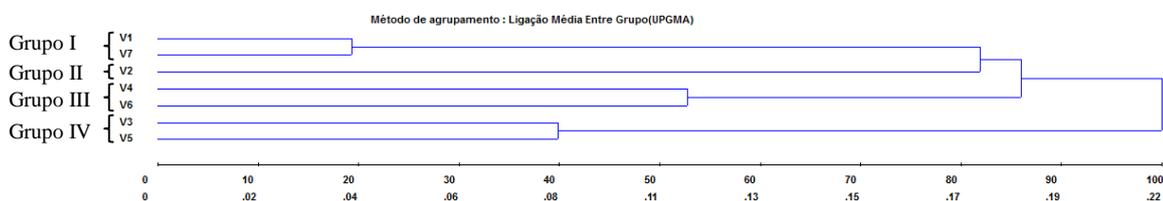


Figura 6.9. Dendrograma representativo do agrupamento pelo método UPGMA de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas na região semiárida de Pernambuco, tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação chuvosa

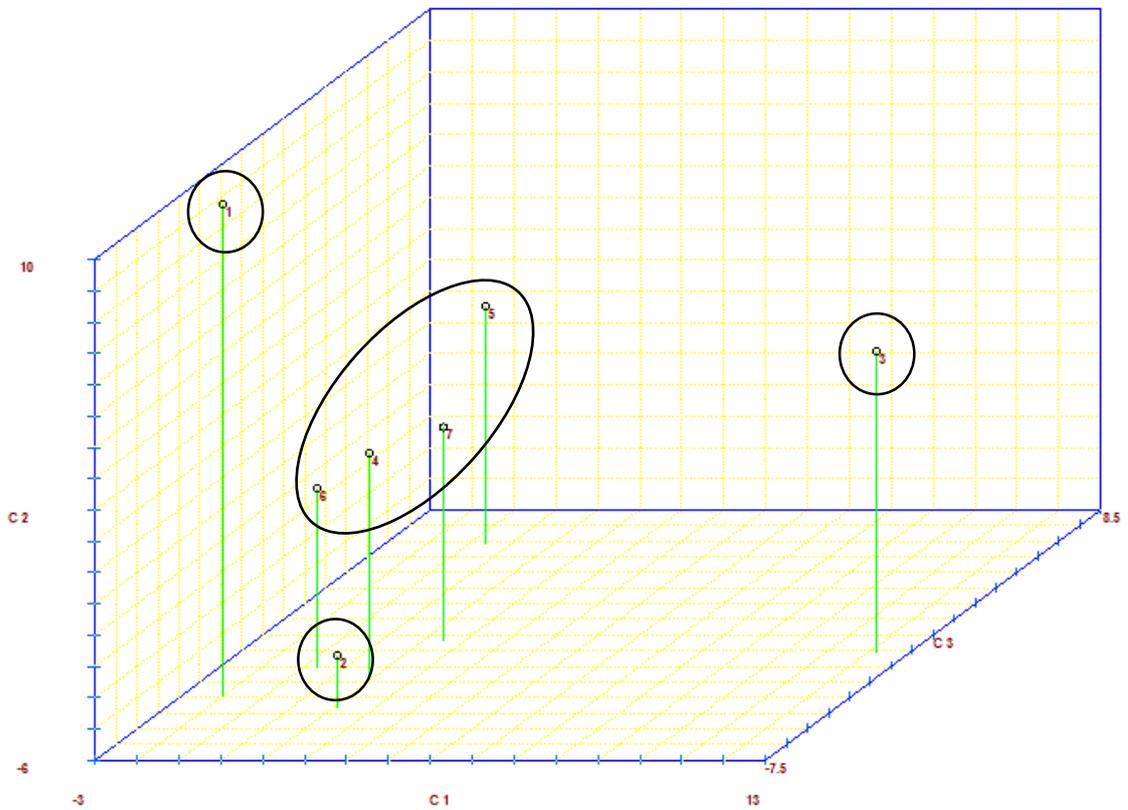


Figura 6.10. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação seca

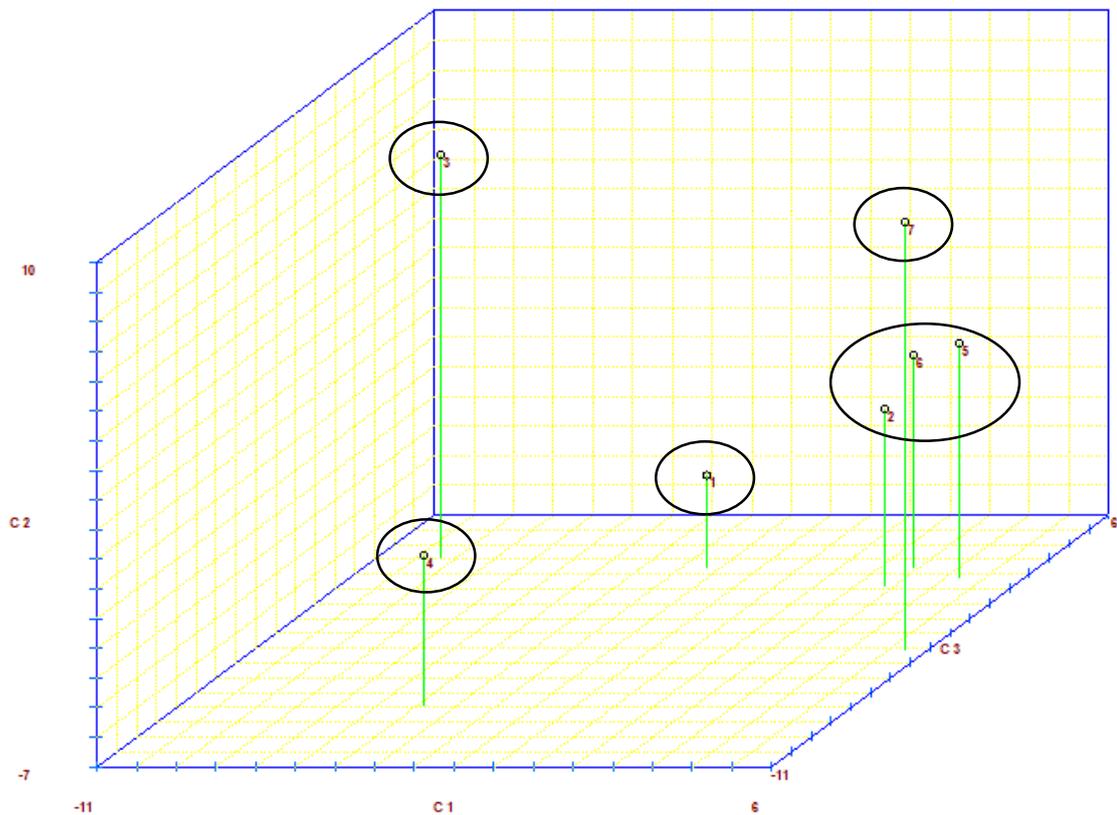


Figura 6.11. Dispersão gráfica de sete variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) tendo como base o espectro de RMN de ^1H na estação chuvosa

6.3.4 Determinação da atividade citotóxica

Os resultados da atividade citotóxica contra células de câncer humano de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*), coletadas no período seco e chuvoso encontram-se na Figura 6.12.

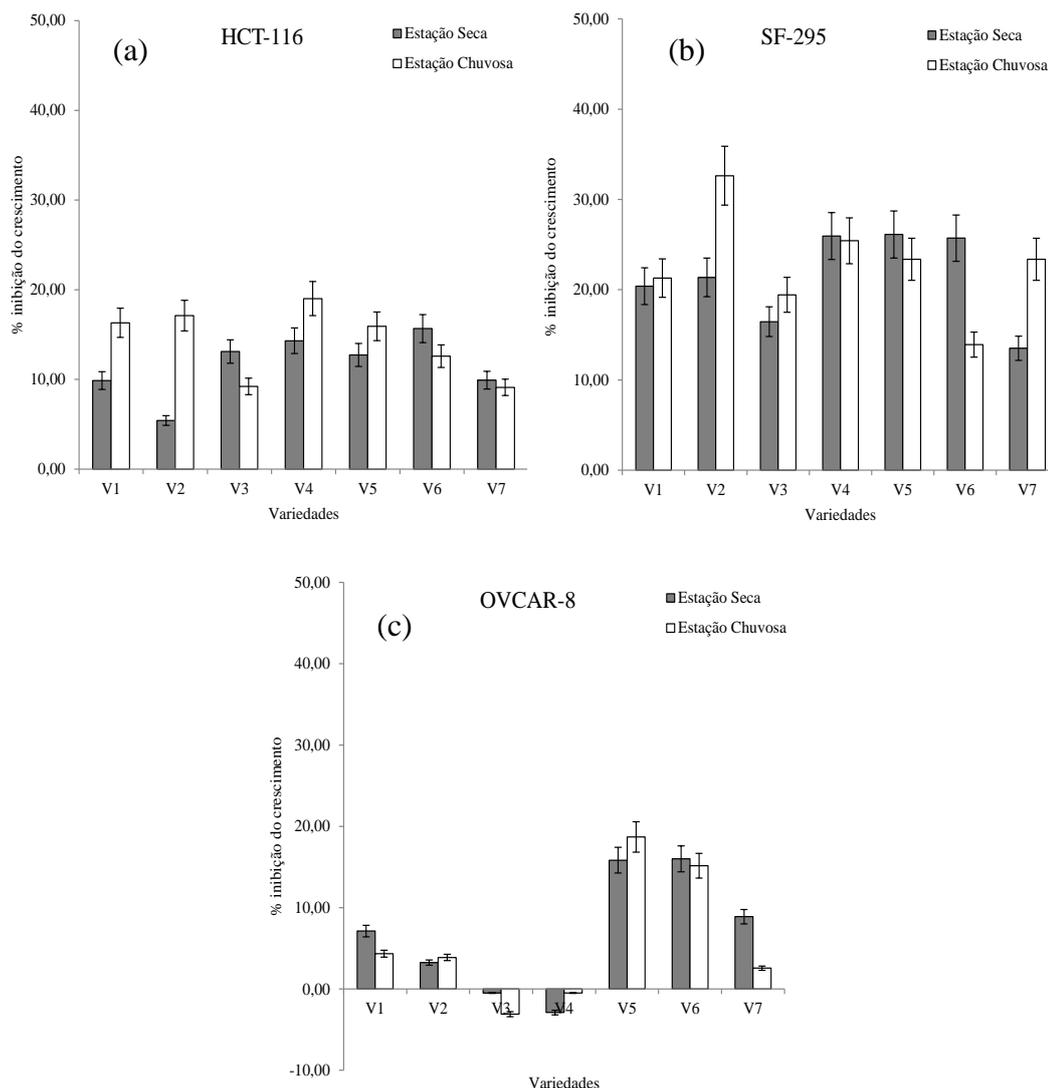


Figura 6.12. Atividade citotóxica contra células de câncer humano (a) HCT-116 (côlon retal humano), (b) SF-295 (glioblastoma humano) e (c) OVCAR-8 (ovário humano) de extrato etanólico bruto de variedades de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*), coletadas no período seco e chuvoso. (V1) IPA-100003 (*O. ficus indica*), (V2) IPA-200016 (*O. stricta*), (V3) IPA-200008 (*O. atropes*), (V4) IPA-100004 (*N. cochenillifera*), (V5) IPA-200021 (*N. cochenillifera*), (V6) IPA-200205 (*N. cochenillifera*) e (V7) IPA-200149 (*O. larreri*). As barras representam a média (n=3) \pm desvio padrão

A resposta dos extratos de palma na concentração utilizada apresenta nenhuma ou pouca atividade (inibição do crescimento celular inferiores a 50%) contra as linhagens de câncer humano utilizadas no estudo. A atividade citotóxica dos extratos contra células cancerígenas variou entre as variedades, estações de coleta do material e entre tipos de células.

Os extratos de palma que tiveram as melhores respostas contra o crescimento de células cancerígenas HCT-116 (côlon retal humano) foram: IPA-200008 (V3), IPA-100004 (V4), IPA-200021 (V5) e IPA-200205 (V6) (estação seca), e IPA-100003 (V1), IPA-200016 (V2), IPA-

100004 (V4) e IPA-200021 (V5) (estação chuvosa), com média de redução no crescimento em torno de 14% e 17%, respectivamente para o período seco e chuvoso. Para as células de SF-295 (glioblastoma humano) a redução no crescimento ficou em torno de 24% para os extratos das variedades IPA-100003 (V1), IPA-200016 (V2), IPA-100004 (V4), IPA-200021 (V5) e IPA-200205 (V6) (estação seca), e 33% para o IPA-200016 (V2) (estação chuvosa). Para as células OVCAR-8 (ovário humano) a redução no crescimento ficou em torno de 16% para os dois períodos entre as variedades IPA-200021 (V5) e IPA-200205 (V6) (Figura 6.12).

A inibição do crescimento de células cancerígenas foi maior na estação chuvosa, com exceção de IPA-200008 (V3) e IPA-200205 (V6) para HCT-116; IPA-200205 (V6) para SF-295; IPA-100003 (V1) e IPA-200149 (V7) para SF-295 (Figura 6.12).

A sensibilidade das células cancerígenas aos extratos das variedades de palma diferiu entre os tipos de células. As células de SF-295 (glioblastoma humano) foram as mais sensíveis, seguidas de HCT-116 (côlon retal humano) e OVCAR-8 (ovário humano) (Figura 6.12).

Os resultados apresentados neste trabalho estão de acordo com os relatados por Chavez-Santoscoy *et al.* (2009), estudando a atividade anticâncer de extratos de frutas de nove espécies de palma (*Opuntia* spp.) sobre a proliferação de células de câncer de mama (MCF-7), próstata (PC3), colo (Caco-2) e hepáticas (HepG2). Os pesquisadores relataram variação entre as espécies de palma, em relação à atividade citotóxica, e variação na sensibilidade entre os tipos de células cancerígenas aos extratos de palma (0,5%) incubados por 48 horas. As células mais sensíveis de câncer foram as de colo (Caco-2) e próstata (PC3), com redução média no crescimento em torno de 15% e 23%, respectivamente. Neste trabalho a resposta das espécies de palma apresenta pouca atividade (inibição de crescimento celular inferiores a 50%) contra as linhagens de câncer utilizadas no estudo.

Zou *et al.* (2005), estudando o efeito de extrato aquoso de frutas e sementes de palma forrageira (*Opuntia* spp.) sobre a proliferação de células de câncer do colo do útero (TCL1, HeLa e Me180), ovário (IOSE, OVCA420 e SKOV3) e bexiga (UM-UC6, T24 e UM-UC9), relataram diferença entre a sensibilidade das células cancerígenas a concentrações de extrato utilizadas (0,5; 1; 5; 10 e 25%) e o tempo de exposição (1, 3 e 5 dias). Os autores relatam que a concentração do extrato aquoso de frutos de palma (1%) é efetiva na inibição de 40-60% do crescimento de células cancerígenas cervical e do epitélio cervical imortalizado; e que a inibição do crescimento pode chegar próxima a 100%, dependendo da célula cancerígena, da dose e tempo de exposição aos extratos. Naselli *et al.* (2014) estudando a atividade anticâncer de extratos de frutas de *O. ficus indica* sobre a proliferação de células de câncer do carcinoma

colorectal (Caco-2), relataram que a inibição do crescimento das células cancerígenas depende da concentração de extrato utilizada. A concentração de 400.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de extrato inibiu 50% do crescimento de Caco-2, a inibição chega aos 100% na concentração (750.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) quando incubados por 48 horas. Esses trabalhos corroboram com os resultados apresentados neste estudo, e reforçam a atividade citotóxica de extratos de palma, contra algumas células de câncer humano, onde essa atividade depende da concentração e do tempo de exposição ao extrato.

Kim *et al.* (2013) estudando a atividade anticâncer de extratos de cladódios de *O. humifusa* relataram inibição no crescimento de 80,2% para as células de SW480 (câncer do colo do útero) e 54,4% para células de MCF7 (câncer de mama). Os pesquisadores relatam diferenças na atividade anticâncer entre os extratos (hexano, acetato de etila, acetona, metanol e metano/água), concentrações (6,25, 12,5, 25, 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e tempo do ensaio (24, 48 e 72 horas). No geral a inibição do crescimento das células cancerígenas dos extratos dos cladódios não chega a 50% quando utilizada a concentração (50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) por 72 horas, corroborando com os resultados do nosso trabalho.

A propriedade anticâncer de extratos de palma tem sido atribuída à propriedade antioxidante dos compostos fenólicos, principalmente os ácidos fenólicos, flavonoides, betacianinas e betaxantinas (DHAOUADI *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2013; SERRA *et al.*, 2013; ZOU *et al.*, 2005). Embora as substâncias químicas responsáveis pela atividade citotóxica neste trabalho não tenham sido isoladas, certamente seja da classe dos flavonoides.

A baixa percentagem de inibição do crescimento de células cancerígenas, encontrada neste estudo, provavelmente está relacionada à maioria dos flavonoides glicosídicos presentes no extrato, com porções de açúcar ligadas a hidroxila no C-3, perdendo assim, sua capacidade antioxidante (SANTOS-ZEA *et al.*, 2011). Além disso, pode ser atribuída à sub-dose utilizada (50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ou 0,005%), já que a maioria dos trabalhos encontrados na literatura relata inibição próxima a 100% com doses superiores. Ademais, a maioria dos estudos foi realizada com extratos de frutos (pericarpo + sementes) e o presente trabalho com cladódios.

Apesar da atividade citotóxica dos extratos de cladódios de palma tenha apresentado valores baixos contra as linhagens de câncer estudadas nesta pesquisa, os resultados são importantes para a utilização desses materiais como suplementos dietéticos naturais preventivos contra câncer, em populações normais e de risco. Pesquisas adicionais precisam ser realizadas para identificação e quantificação dos compostos bioativos presentes nos cladódios e outros órgãos da planta.

6.4 Conclusões

O grupo de substâncias químicas presentes nos cladódios de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) que mais se destacam são os carboidratos e substâncias glicosiladas, lipídeos (ácidos graxos e esteroides) e compostos fenólicos (flavonoides). Os carboidratos, as substâncias glicosídicas e compostos fenólicos são mais expressivos no período chuvoso.

A análise dos espectros de RMN de ^1H das variedades de palma pelos métodos de análise multivariada constata a diversidade genética entre os materiais nas duas estações, seca e chuvosa.

O estudo da atividade citotóxica dos extratos de cladódios de palma forrageira, variedades (IPA-100003, IPA-100004, IPA-200021, IPA-200205, IPA-200008, IPA-200149 e IPA-200016), na concentração estudada ($50 \mu\text{g.mL}^{-1}$), apresentam pouco efeito citotóxico contra as linhagens de câncer humano utilizadas no estudo.

A atividade citotóxica de cladódios de palma é atribuída aos compostos fenólicos, em especial aos flavonoides.

6.5 Referências

ARAÚJO, L. de F.; OLIVEIRA, L. de S.C.; PERAZZO NETO, A.; ALSINA, O.L.S. de; SILVA, F.L.H. da. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: Relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.3, p.379-384, 2005.

ARRIEL, N.H.C.; DI-MAURO, A.O.; DI-MAURO, S.M.Z.; BAKKE, O.A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; CAPELOTO, A.; CORRADO, A.R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.801-809, 2006.

AZEVEDO, R.A.; ARRUDA, M.A.Z.; GRATÃO, P.L.; CAPALDI, F.R. Oxidative stress induced by metals – new approaches. *In*: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 10, p. 79-81.

BARI, M.N.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K.; RASOOL, N.; BUKHARI, I.H.; AKRAM, S.; BOKHARI, T.H.; SHAHID, M.; HAMEED, M. AHMAD, V.U. Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, n.4, v.34, p.990-995, 2012.

BARTWAL, A.; MALL, R.; LOHANI, P.; GURU, S.K.; ARORA, S. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, n.1, p.216-232, 2013.

BOURGOU, S.; BETTAIEB, I.; SAIDANI, M.; MARZOUK, B. Fatty acids, essential oil, and phenolics modifications of black Cumin fruit under NaCl stress conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.23, p.12399-12406, 2010.

BRAS, A.A.Q. **Caracterização do extrato de *Opuntia ficus indica* (L.) Mill e avaliação de sua atividade fotoprotetora.** 2011. 21p. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.

CHAVEZ-SANTOSCOY, R.A. GUTIERREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDÍVAR, S.O. Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and *In Vitro* Cancer Cell Cytotoxicity of Nine Prickly Pear (*Opuntia* spp.) Juices. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.64, p.146-152, 2009.

CRUZ, C.D. **Programa GENES: Aplicativo computacional em genética e estatística.** Viçosa: UFV, 2001. 648p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** 4. Ed. Viçosa: UFV, 2012. 514p.

DESOTI, V.C.; MALDANER, C.L.; CARLETTO, M.S.; HEINZ, A.A.; COELHO, M.S.; PIATI, D. TIUMAN, T.S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciência da Saúde da UNIPAR**, v.15, n.1, p.3-13, 2011.

DHAOUADI, K.; RABOUDI, F.; FUNEZ-GOMEZ, L.; PAMIES, D.; ESTEVAN, C.; HAMDAOUI, M.; FATTOUCH, S. Polyphenolic Extract of Barbary-Fig (*Opuntia ficus-indica*) Syrup: RP–HPLC–ESI–MS Analysis and Determination of Antioxidant, Antimicrobial and Cancer-Cells Cytotoxic Potentials. **Food Analytical Methods**, v.6, p.45-53, 2013.

EL-KAOUA, M.; SERRAJ, R.; BENICHO, M.; HSISSOU, D. Comparative sensitivity of two Moroccan wheat varieties to water stress: the relationship between fatty acids and proline accumulation. **Botanical Studies**, v.47, p.51-60, 2006.

FERNANDES, P.D.; ANDRADE, A.P. de.; FERNANDES, M.G.; CORREIA, K.G. Potencial de plantas da Caatinga. *In*: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 13, p. 96-105.

IULIANELLI, G.C.V.; TAVARES, M.I.B. Caracterização de Diferentes Amostras de Mandioca por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear. **Polímeros**, v.21, n.2, p.131-136, 2011.

KIM, J.; JHO, K.H.; CHOI, Y.H.; NAM, S.-Y. Chemopreventive effect of cactus (*Opuntia humifusa*) extracts: radical scavenging activity, pro-apoptosis, and anti-inflammatory effect in human colon (SW480) and breast cancer (MCF7) cells. **Food & Function**, v.4, n.5, p.681-688, 2013.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: EdUFC, 2009. 150p.

MEDEIROS, S. de. S.; CECÍLIO, R.A.; MELO-JÚNIOR, J.C.F.; SILVA-JÚNIOR, J.L.C. da.; Estimativa e espacialização das temperaturas do ar mínimas, médias e máximas na Região Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.2, p.247-255, 2005.

MENDEZ, M.; RODRÍGUEZ, R.; RUIZ, J.; MORALES-ADAME, D.; CASTILLO, F.; HERNÁNDEZ-CASTILLO, F.D.; AGUILAR, C.N. Antibacterial activity of plant extracts

obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. **Industrial Crops and Products**, v.37, p.445-450, 2012.

MONDRAGÓN-JACOBO, C.; PÉREZ-GONZÁLEZ, S. **Cactus (*Opuntia* spp.) as forage**. Plant Production and Protection Paper da FAO, 169. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2001. 146p.

MORALES, P.; RAMÍREZ-MORENO, E.; SANCHEZ-MATA, M. de. C.; CARVALHO, A.M.; FERREIRA, I.C.F.R. Nutritional and antioxidant properties of pulp and seeds of two xoconostle cultivars (*Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguet and *Opuntia matudae* Scheinvar) of high consumption in Mexico. **Food Research International**, v.46, p.279-285, 2012.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods**, v.65, p.55-63, 1983.

NASELLI, F.; TESORIERE, L.; CARADONNA, F.; BELLAVIA, D.; ATTANZIO, A.; GENTILE, C.; LIVREA, M.A. Anti-proliferative and pro-apoptotic activity of whole extract and isolated indicaxanthin from *Opuntia ficus-indica* associated with re-activation of the onco-suppressor p16INK4a gene in human colorectal carcinoma (Caco-2) cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.450, p.652-658, 2014.

OLIVEIRA, F.T.; SILVA, J.S.; SILVA, R.P.; ANDRADE-FILHO, F.C.; PEREIRA-JUNIOR, E.B. Palma forrageira: Adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.4, p.27-37, 2010.

PRESTES, R.A.; ALMEIDA, D.M.; BARISON, A.; PINHEIRO, L.A.; WOSIACKI, G. Caracterização por ressonância magnética nuclear de sucos de maçã obtidos por preparações enzimáticas. **Química Nova**, v.35, n.6, p.1141-1145, 2012.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.6, n.11, p.1720–1731, 2011.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley & Sons, 1952. 390p.

RIBEIRO, E.M. de. O.; SILVA, N.H. da.; LIMA-FILHO, J.L. de.; BRITO, J.Z. de.; SILVA, M. da. P.C.da. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.30, v.4, p.933-939, 2010.

RIBEIRO, C.M.; SOUZA, N.Â. de. Esquema geral para elucidação de substâncias orgânicas usando métodos espectroscópico e espectrométrico. **Química Nova**, v.30, n.04, p.1026-1031, 2007.

RODZIEWICZ, P.; SWARCEWICZ, B.; CHMIELEWSKA, K.; WOJAKOWSKA, A.; STOBIECKI, M. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.1, p.1-19, 2014.

ROSA, S.B.; CAVERZAN, A. RIBEIRO, C.; LAZZAROTTO, F.; PASSAIA, G.; SILVEIRA, J.A.G.; FERREIRA-SILVA, S.; FERREIRA, M.A.; MARGIS, R.; MARGIS-PINHEIRO, M. Interação entre estresse oxidativo e estresse abióticos: o papel do sistema antioxidante na regulação das respostas de defesa. *In*: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 09, p. 71-78.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E.; MORENO, D.A.; FERRENES, F.; RUBIO-WILHELMI, M. del. M.; RUIZ, J.M. Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: Changes on phenolic metabolites and related enzymes. **Phytochemistry**, v.72, p.723-729, 2011.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E.; RUIZ, J.M.; FERRENES, F.; MORENO, D.A. Phenolic profiles of cherry tomatoes as influenced by hydric stress and rootstock technique. **Food Chemistry**, v.134, p.775-782, 2012.

SANTOS-ZEA, L.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDIVAR, S.O. Comparative Analyses of Total Phenols, Antioxidant Activity, and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia* spp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.7054-7061, 2011.

SERRA, A.T.; POEJO, J.; MATIAS, A.A.; BRONZE, M.R.; DUARTE, C.M.M. Evaluation of *Opuntia* spp. derived products as antiproliferative agents in human colon cancer cell line (HT29). **Food Research International**, v.54, p.892-901, 2013

SHEDBALKAR, U.U.; ADKI, V.S.; JADHAV, J.P.; BAPAT, V.A. *Opuntia* and Other Cacti: Applications and Biotechnological Insights. **Tropical Plant Biology**, v.3, p.136-150, 2010.

SILVA, N.R. da.; PADOVANI, C.R. Utilização de componentes principais em experimentação agrônômica. **Energia na Agricultura**, v.21, n.4, p.98-113, 2006.

SILVEIRA, J.A.G.; FERREIRA-SILVA, S.L.; FONTENELE, A. de. V.; SILVA, E.N. Mecanismos de proteção oxidativa sob condições de estresses abióticos combinados em espécies do semiárido. *In*: LACERDA, C.F. de.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; MARQUES, E.C. **A fisiologia vegetal e os desafios para produção de alimentos e bioenergia**. 1. ed. Fortaleza: UFC/EMBRAPA-CNPAT, 2009. cap. 11, p. 82-88.

SOARES, B.S.A. **Obtenção e caracterização do extrato nebulizador da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e avaliação da sua atividade antimicrobiana e fotoprotetora**. 2012. 23p. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.

SOARES, A.M. dos. S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.1, p.9-19, 2007.

TAO, R.; HAO, L.; JIA, S.; ZHENG, X.; YU, J.; JIANG, Q. A Comparative Study on the Antioxidant Activity of Two Polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. **Advances in Applied Biotechnology**, v.333, p.441-450, 2015.

VIANA, J.P.G. **Diversidade genética em alho (*Allium sativum* L.)**. 2013. 56 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Teresina.

VIZCAINO, R.L.M.; MENDOZA, D.M.; ALCOCER, M.S.P.; HERNANDEZ, R.; GONZALEZ, A.M.; CONTRERAS, A.M.V. Evaluación química del extracto total etanólico de las hojas y corteza fresca de *Muntingia calabura* (Elaeocarpaceae). **Scientia et Technica**, v.33, p.455-456, 2007.

YEILAGHI, H.; ARZANI, A.; GHADERIAN, M.; FOTOVAT, R.; FEIZI, M.; POURDAD, S.S. Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v.130, n.3, p.618-625, 2012.

ZHONG, X-K.; JIN, X.; LAI, F-Y.; LIN, Q-S.; JIANG, J-G. Chemical analysis and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharide extracted from *Opuntia ficus indica* Mill. cultivated in China. **Carbohydrate Polymers**, v.82, p.722-727, 2010.

ZOU, Da-M.; BREWER, M.; GARCIA, F.; FEUGANG, J.M.; WANG, J.; ZANG, R.; LIU, H.; ZOU, C. Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. **Nutrition Journal**, v.4, p.1-12, 2005.

7 Considerações Finais

Os resultados do estudo químico e nutricional dos cladódios de variedades de palma forrageira confirmam o valor nutritivo dos mesmos tanto na nutrição animal quanto na nutrição humana. Os teores de carboidratos, minerais e compostos fenólicos se equivalem ou mesmo são superiores a muitas outras fontes naturais já conhecidas. Além do mais, os componentes químicos e nutricionais da palma têm uma ampla variação, tanto em sua composição quanto no seu conteúdo, e variam entre as espécies botânicas estudadas, dentro da mesma espécie, entre cladódios dentro do genótipo, e época do ano de coleta do material.

Os estudos confirmaram também que os metabólitos secundários (compostos bioativos) presentes na palma forrageira têm ação antioxidante e citotóxica contra células de câncer humana estudadas (HCT-116-cólon retal humano, SF-295-glioblastoma humano e OVCAR-8-ovário humano). Provavelmente, essas substâncias são da classe dos compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) e/ou esteróis identificados nos cladódios. Do mesmo modo que a composição química, a atividade antioxidante e citotóxica do extrato etanólico bruto dos cladódios, varia entre as espécies botânicas estudadas, dentro da mesma espécie, épocas do ano e tipos de células cancerígenas. Isso era esperando uma vez que essas atividades estão associadas à composição e concentração de metabólitos secundários com ação antioxidante no extrato da planta, e agressividade das células cancerígenas.

Essa pesquisa contribui para ajudar na seleção das variedades, idade dos cladódios, e mesmo a época do ano mais propícia a colheita dos cladódios visando obter as maiores propriedades nutritivas e nutracêuticas desse alimento. Serve também, como material de referência na adição de cladódios de palma forrageira não somente na nutrição e saúde animal, mas como ingrediente para alimentos funcionais na nutrição e saúde humana. No entanto, estudos são necessários, principalmente, em relação à toxicidade desse alimento na nutrição humana.

Além do mais, essa pesquisa irá servir de ajuda no melhoramento genético da palma forrageira visando a escolha de genótipos mais adaptados e/ou resistentes aos diversos estresses abióticos e bióticos. Já que o acúmulo de metabólitos secundários está associado ao sistema de defesa da planta para enfrentar tais estresses, particularmente o oxidativo.

Estudos adicionais nessa área são necessários para identificar e quantificar os metabólitos secundários presentes nas diferentes partes (flor, fruto, cladódio, semente e raiz) da planta e correlaciona-los com a capacidade antioxidante, citotóxica e nutracêutica. Além disso,

esses estudos devem estender-se para as diversas variedades cultivadas em cada região do Brasil nas diversas épocas do ano.

Os resultados do estudo da diversidade genética utilizando características fenotípicas, químicas e nutricionais indicaram que o teor de água, massa fresca dos cladódios, conteúdo de flavonoides e potássio foram as características que mais contribuíram para a variabilidade genética entre os genótipos. Essas características estão significativamente correlacionadas com massa seca, largura, comprimento, área, extrato não nitrogenado e compostos fenólicos dos cladódios.

Essa pesquisa também agrupou as variedades de acordo com suas similaridades, facilitando a escolha de cruzamentos entre genótipos viáveis, visando ganho genéticos entre as características de interesse. No entanto, as classificações dos genótipos em grupos divergiram entre os métodos utilizados, e características analisadas. Além do mais, esperava-se que os genótipos dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* fossem classificados em grupos distintos, e isso não aconteceu, tanto quando agrupados pelas características morfológicas, quanto pelas químicas e nutricionais. Onde existiu grupos que continham genótipos dos dois gêneros.

A classificação dos genótipos em grupos pelas características morfológica divergiram dos agrupamentos feitos pelas características químicas e nutricionais. Provavelmente essa divergência se dá pelo fato da classificação dos genótipos de palma através de características fenotípicas e/ou químicas ser muito difícil, uma vez que fatores edafoclimáticos interferem diretamente nessas características.

Ademais, a identificação taxonômica dos genótipos pode ter sido comprometida, uma vez que alguns exemplares vieram do México já identificados e outros foram desenvolvidos pelo programa de melhoramento genético do IPA e identificados por especialistas desta mesma instituição. Como a classificação taxonômica das cactáceas, especialmente as dos gêneros, *Opuntia* e *Nopalea*, através de características fenotípicas ser complicada, pode ter tido erro na hora da identificação dos genótipos. Pois, as espécies desses gêneros apresentam variação fenotípica de acordo com as condições ambientais, além do mais, são frequentes os casos de poliploidia, e a existência de muitos híbridos interespecíficos.

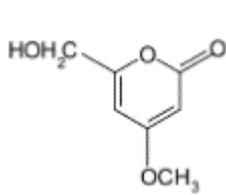
Assim, os resultados sugerem perspectivas de trabalhos futuros com o objetivo de explorar a variabilidade encontrada entre os genótipos de palma estudados e a possibilidade de utilização de outras metodologias como a de marcadores moleculares de proteínas, marcadores químicos (metabólitos secundários), características fisiológicas e bioquímicas, e também a variação cromossômica para a determinação da variabilidade genética; proporcionando desta

forma uma análise complementar aos estudos realizados por meio de características fenotípicas, químicas e nutricionais.

ANEXOS

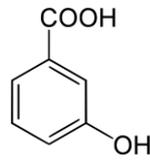
ANEXO A

Estrutura de alguns dos metabólitos secundários encontrados nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*.

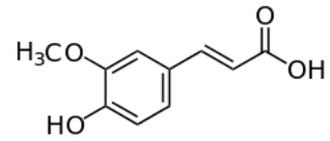


Opuntiol

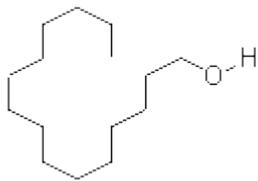
(2-hidroximetil-4-metoxi- α -pirona)



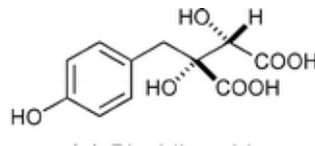
p-hidroxibenzoico



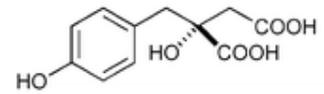
Ácido ferúlico



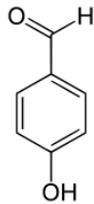
1-heptanecanol



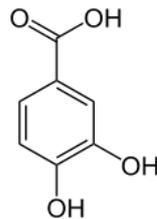
Ácido piscídico



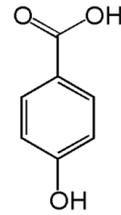
Ácido eucomico



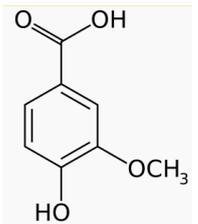
p-hidroxibenzaldeído



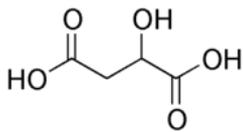
3,4-dihidroxibenzoico



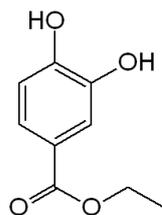
4-hidroxibenzoico



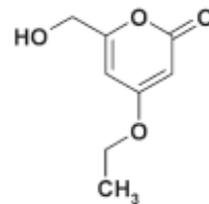
vanílico



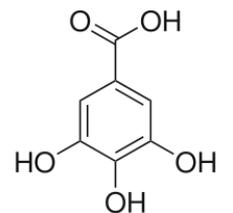
Ácido málico



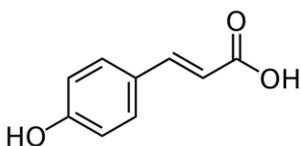
Etil-3,4-dihidroxibenzoico



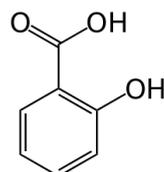
4-etoxi-6-hidroximetil- α -pirona



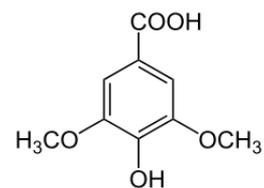
Ácido gálico



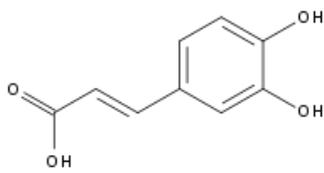
Ácido cumárico



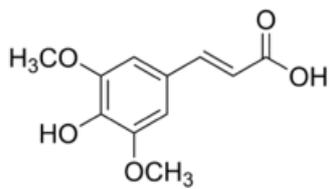
Ácido salicílico



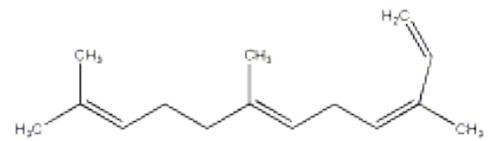
Ácido siringico



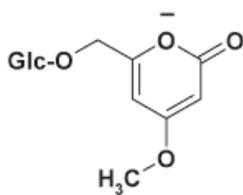
Ácido caféico



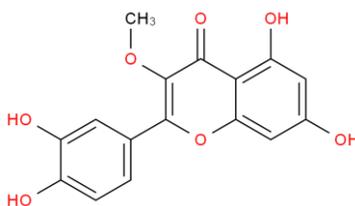
Ácido sinápico



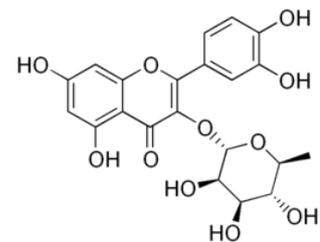
Zatarosideo-A



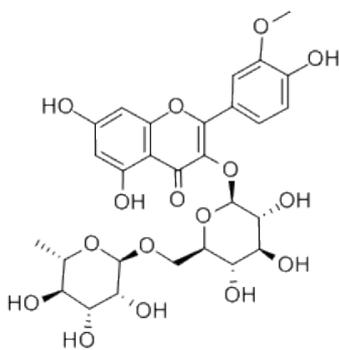
Oputiosideo



Metil-3-quercetina



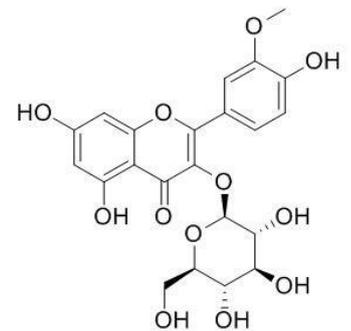
Quercetina-3-ramnosideo



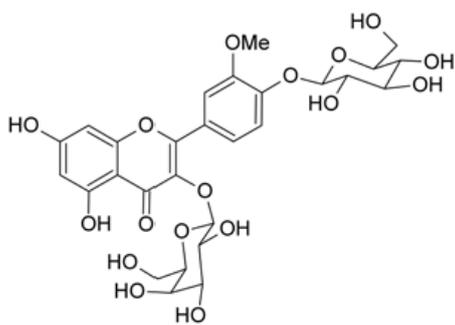
Isorametina-3-rutinosideo



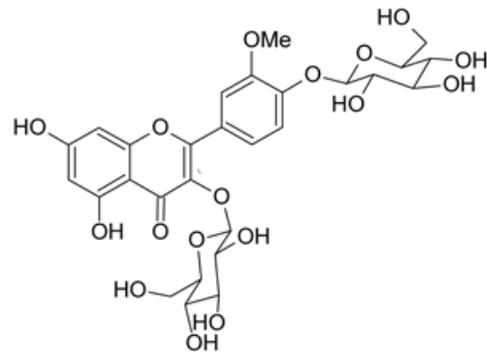
Isorametina-3-galactosideo



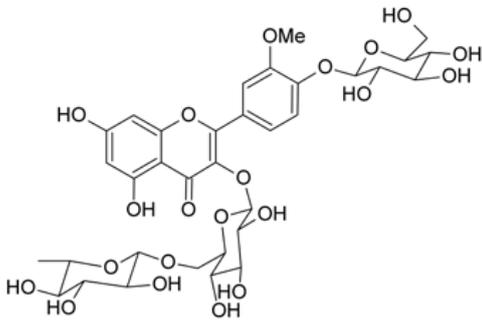
Isorametina-3-glucosideo



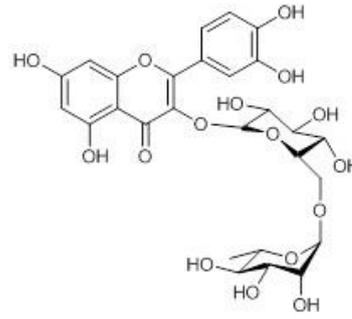
Isorametina-3-O- β -D-galactosil-4'-O- β -D-glucosideo



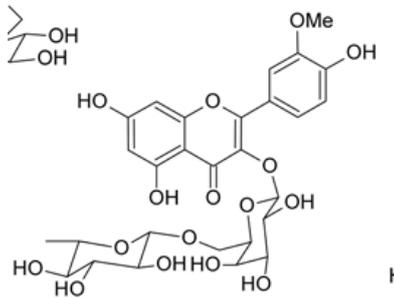
Isorametina-3,4'-di-O- β -D-glucosideo



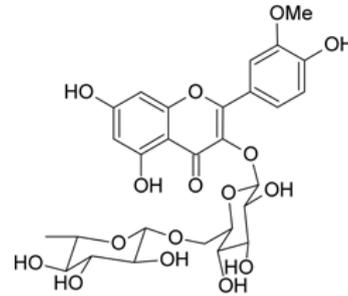
Isorametina-3-O- β -D-(6-O- α -L-ramnosil)-
glucosil-4'-O- β -D-glicosideo



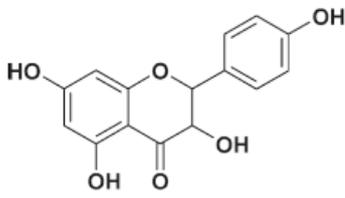
Rutina
(Quercetina-3-rutinosideo)



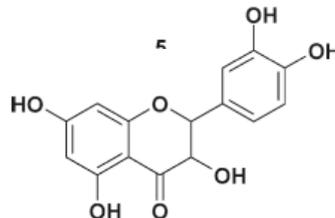
Isorametina-3-O- β -D-(6-O- α -L-ramnosil)-
galactosideo



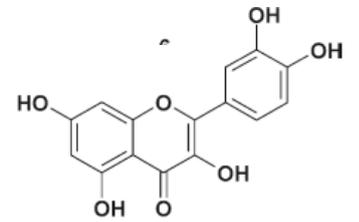
Isorametina-3-O- β -D-(6-O- α -L-ramnosil)-
glucosideo



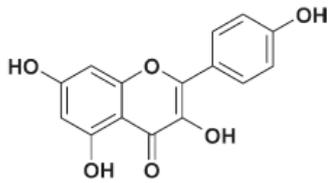
Aromadendrina



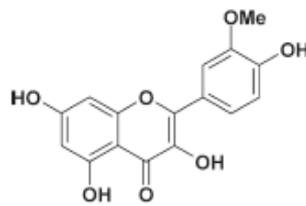
Taxifolina



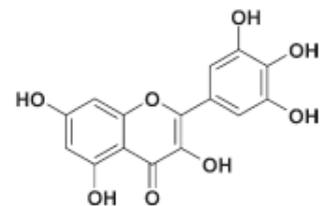
Quercetina



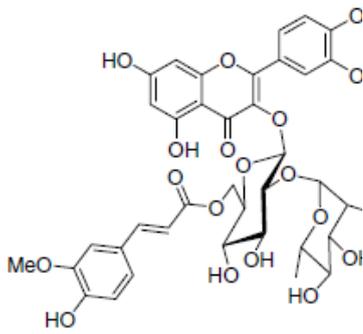
Campferol



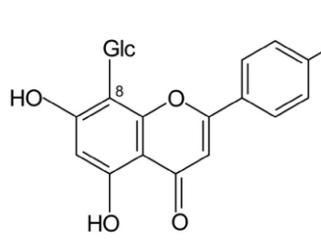
Isorametina



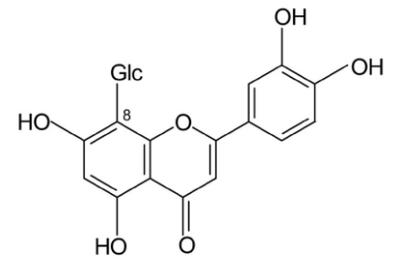
Mirecetina



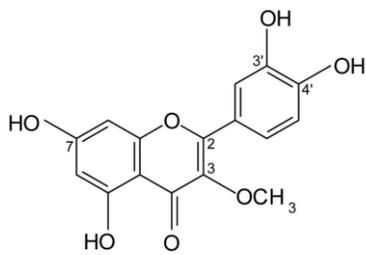
Isoramnetina-3-O-(6'-O-E-feruloil)-
neohesperosido



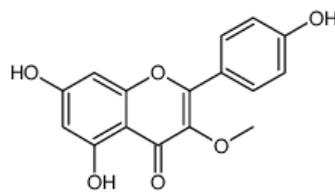
Vitexina



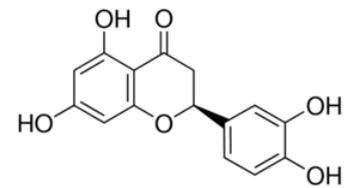
Orientina



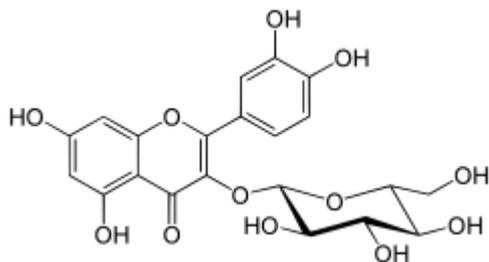
Quercetina-3-metiléter



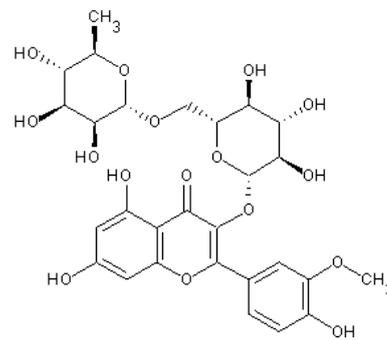
Campferol-3-metiléter



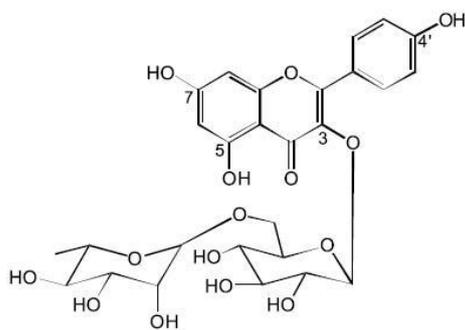
Eriodictiol



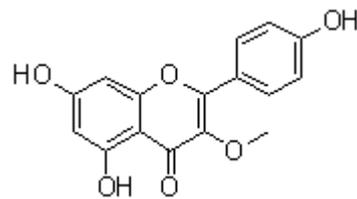
Isoquercitrina
(Quercetina-3-O-β-glucopiranosideo)



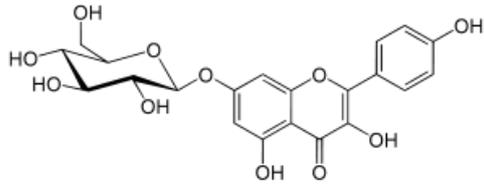
Isoramnetina-3-O-rutinosideo



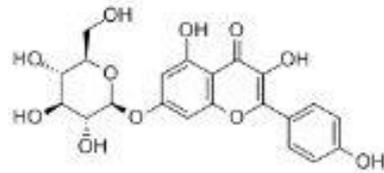
Campferol-3-O-rutinosideo



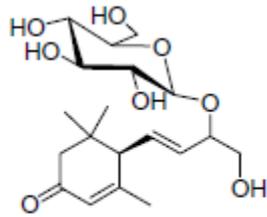
Campferol-3-metiléter



Campferol-7-O-glucosideo

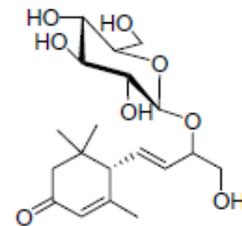


Campferol-7-O-β-D-glucopiranosideo



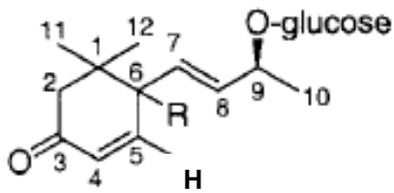
Opuntiosideo-A

[(6R)-9,10-dihidroxi-4,7-megastigmadieno-3-one-9-O-β-D-glucopiranosideo]

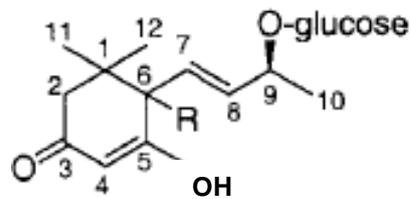


Opuntiosideo-B

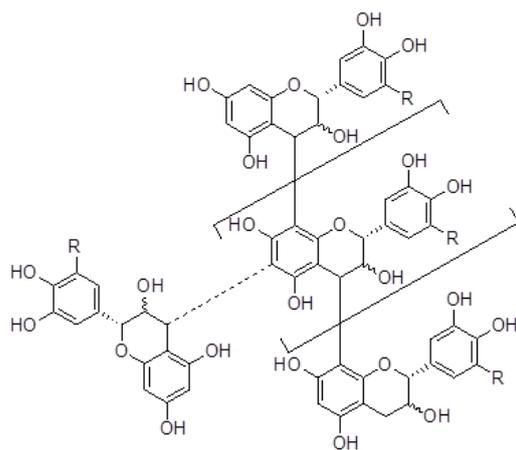
[(6S)-9,10-dihidroxi-4,7-megastigmadieno-3-one-9-O-β-D-glucopiranosideo]



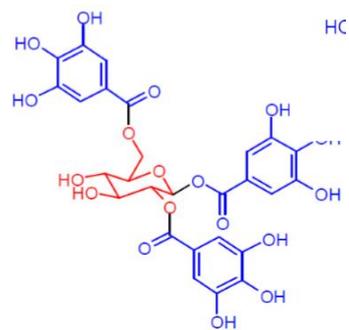
(6S,9S)-3-oxo-α-ionol-β-D-glucopiranosideo



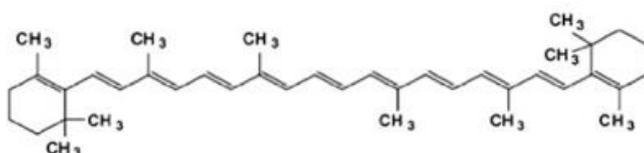
Corchoionosideo-C



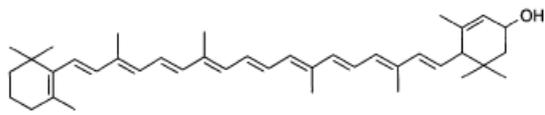
Taninos Condensados



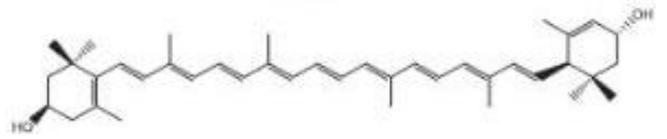
Taninos hidrolisáveis



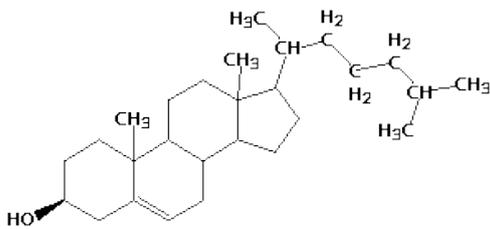
β-caroteno



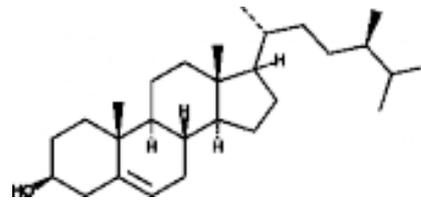
α -criptoxantina



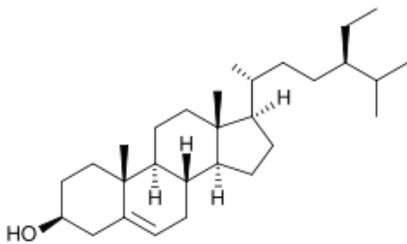
Luteína



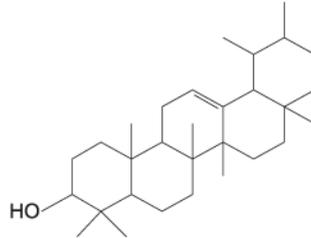
Colesterol



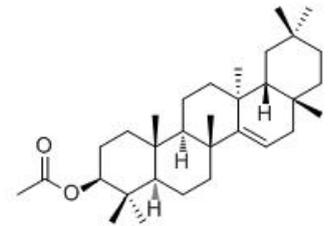
Metilcolesterol



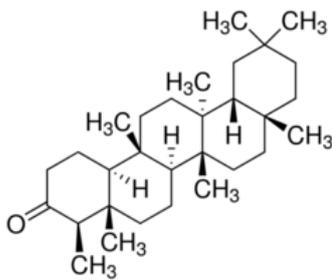
Sitoesterol



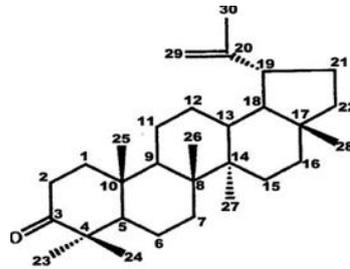
α -amirina



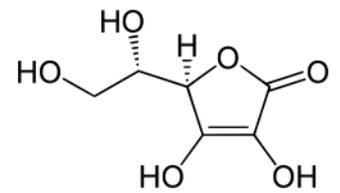
3- β -acetiltaraxerol



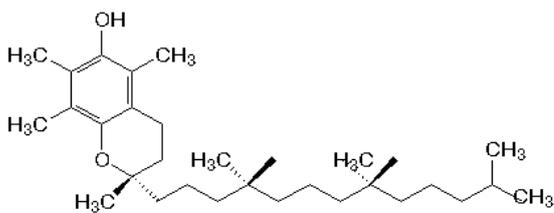
Friedelina



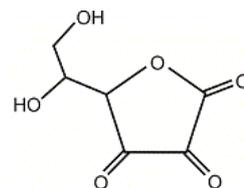
Lupenona



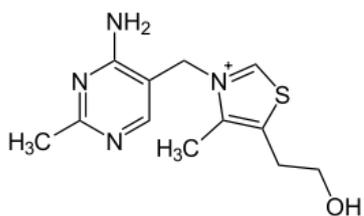
Ácido ascórbico



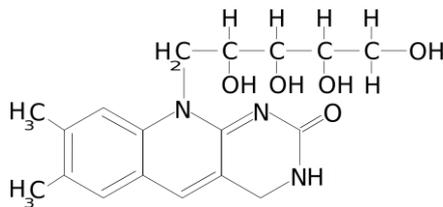
Tocoferol



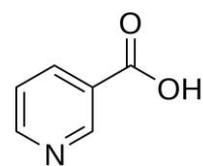
Ácido dehidroascórbico



Tiamina



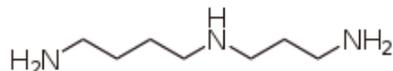
Riboflavina



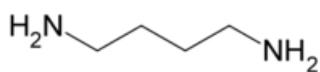
Niacina



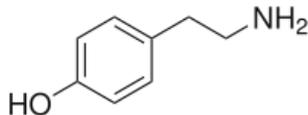
Espermina



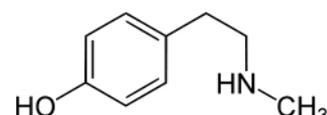
Espermidina



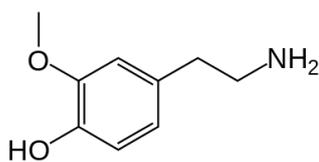
Putrecina



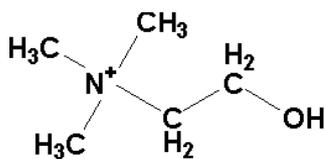
Tiramina



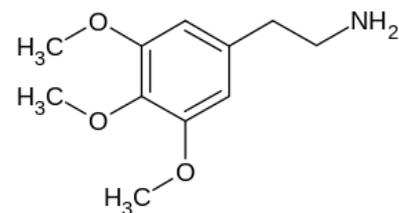
N-metiltiramina



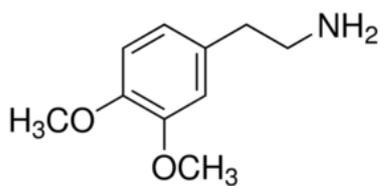
3-metoxitiramina



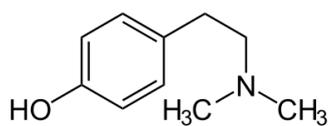
Colina



Mescalina



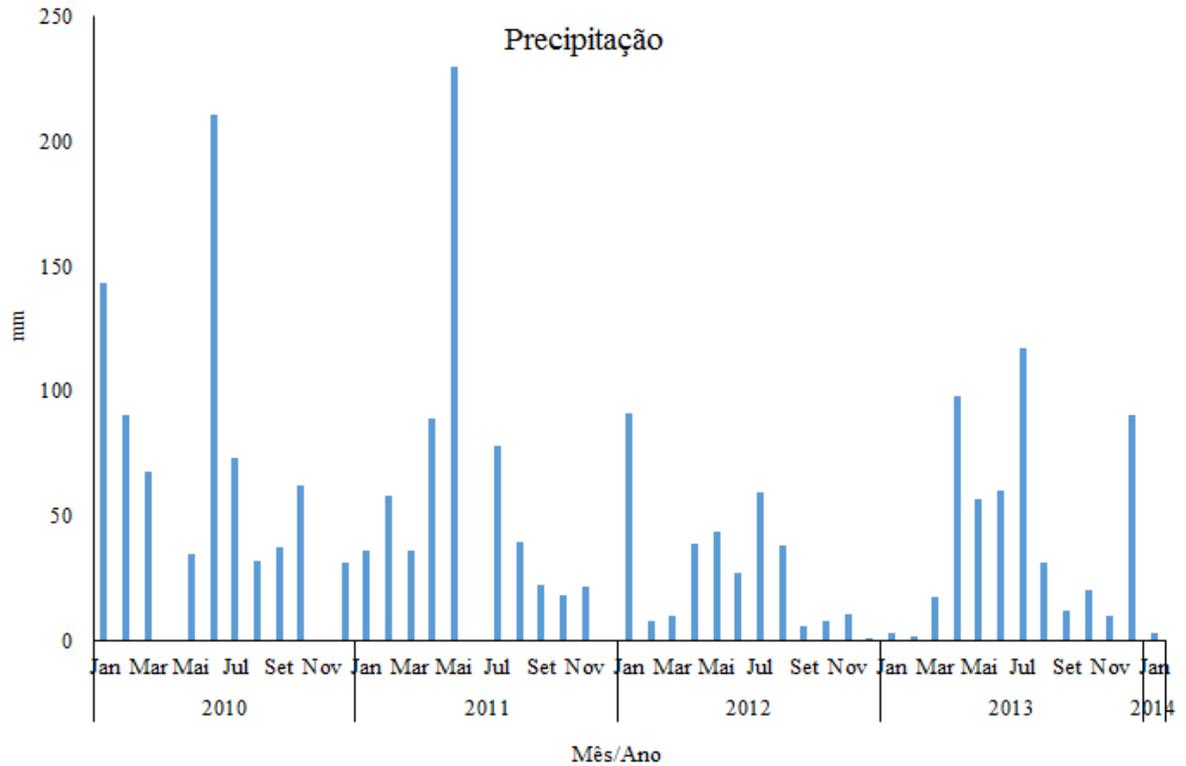
3,4-dimetoxifenetilamina



Ordenina

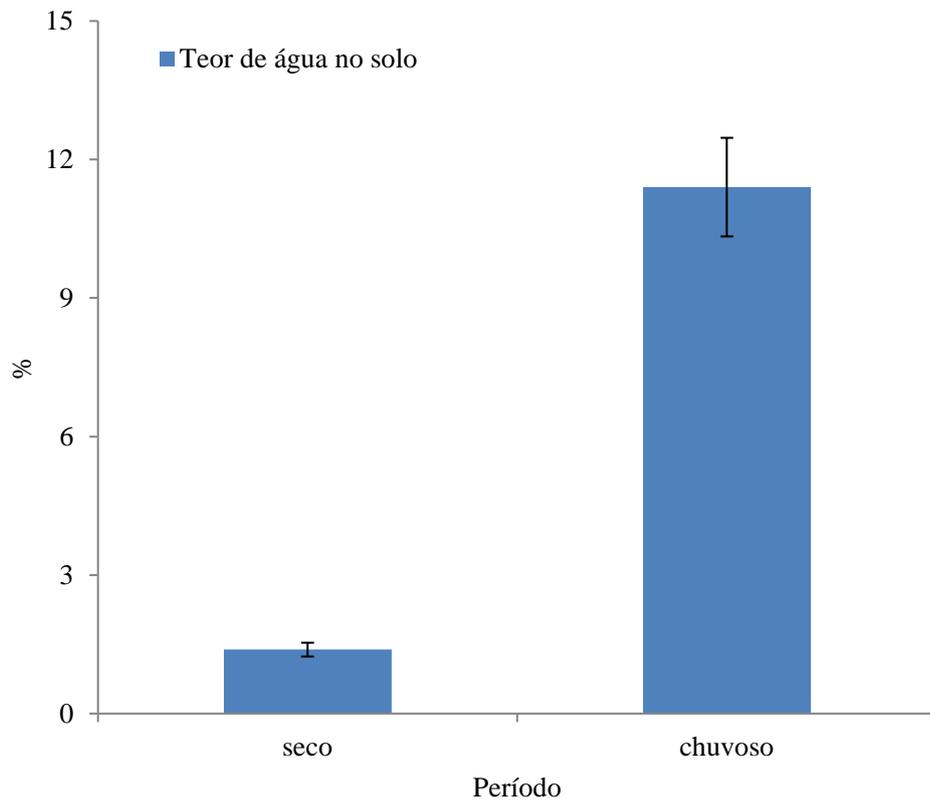
ANEXO B

Precipitação da área de cultivo das variedades de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) de janeiro de 2010 a janeiro de 2014. Dados obtidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizado na estação experimental do IPA em Arcoverde-PE.



ANEXO C

Teor de água no solo do local de cultivo das variedades de palma forrageira, nos dias da coleta das amostras, 19.02.2013 (período seco) e 10.05.2013 (período chuvoso).



ANEXO D

Aspecto visual das variedades de palma forrageira, no período seco e chuvoso.

IPA-100003 (*O. ficus indica*)



Período seco



Período chuvoso

IPA-200016 (*O. stricta*)



Período seco



Período chuvoso

IPA-200008 (*O. atropes*)



Período seco



Período chuvoso

IPA-100004 (*N. cochenillifera*)



Período seco



Período chuvoso

IPA-200021 (*N. cochenillifera*)



Período seco



Período chuvoso

IPA-200205 (*N. cochenillifera*)



Período seco



Período chuvoso

IPA-200149 (*O. larreri*)



Período seco



Período chuvoso