

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE FLORESTA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**AMBIENTAIS E FLORESTAIS**

**DISSERTAÇÃO**

**ESTUDO DA DIVERSIDADE QUÍMICA DOS ÓLEOS**  
**ESSENCIAIS DE PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora* L.)**  
**ACESSADOS NO LITORAL NORTE FLUMINENSE-RJ E**  
**DA ATIVIDADE FUNGICIDA**

**Ygor Nunes Moreira**  
**2024**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E  
FLORESTAIS**

**ESTUDO DA DIVERSIDADE QUÍMICA DOS ÓLEOS  
ESSENCIAIS DE PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora* L.)  
ACESSADOS NO LITORAL NORTE FLUMINENSE-RJ E  
DA ATIVIDADE FUNGICIDA**

**YGOR NUNES MOREIRA**

*Sob a Orientação do(a) Professor(a)*  
**Marco André Alves de Souza**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Ambientais e Florestais**, no Curso de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Florestais, Área de Concentração em Produtos Florestais

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M835e

Moreira, Ygor Nunes, 1998-  
Estudo da diversidade química dos óleos essenciais  
de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) acessados no  
litoral norte fluminense-RJ e da atividade fungicida  
/ Ygor Nunes Moreira. - Rio de Janeiro, 2024.  
95 f.

Orientador: Marco André Alves de Souza.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em  
Ciências Ambientais e Florestais, 2024.

1. Myrtaceae. 2. Quimiodiversidade. 3. Voláteis.  
4. Atividade biológica. I. Souza, Marco André Alves  
de, 1975-, orient. II Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Ciências  
Ambientais e Florestais III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E  
FLORESTAIS**

**YGOR NUNES MOREIRA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Produtos Florestais.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 13/06/2024

---

Dr. Marco André Alves de Souza. UFRRJ  
(Orientador)

---

Drª. Gilmara Pires de Moura Palermo. UFRRJ

---

Dr. Rafael Ferreira da Silva. UFF



**TERMO Nº 573/2024 - PPGCAF (12.28.01.00.00.00.27)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

**(Assinado digitalmente em 17/07/2024 20:37)**

**GILMARA PIRES DE MOURA PALERMO**

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptoPF (12.28.01.00.00.00.30)

Matricula: 00033406

**(Assinado digitalmente em 18/07/2024 15:00)**

**MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA**

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DBQ (11.39.00.24)

Matricula: 00082203

**(Assinado digitalmente em 18/07/2024 12:35)**

**RAFAEL FERREIRA DA SILVA**

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 000.000.364-00

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **573**, ano: **2024**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **17/07/2024** e o código de verificação: **d281e10b63**

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Maria José e Elias Moreira,  
que sob muito sol, fizeram-me chegar até aqui, na sombra.  
Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Charles Darwin, quando chegou ao Brasil no dia 29 de fevereiro de 1832 descreveu nossa fauna e flora da seguinte forma, “O dia transcorreu deliciosamente. Delícia, no entanto, é termo insuficiente para dar conta das emoções sentidas por um naturalista que, pela primeira vez, se viu a sós com a natureza no seio de uma floresta brasileira. A elegância da relva, a novidade das plantas parasitas, a beleza das flores, o verde vivo das ramagens e, acima de tudo, a exuberância da vegetação em geral me encheu de admiração”. Meu agradecimento inicial é ao Universo que me proporcionou o dom da vida e a oportunidade de contribuir com o conhecimento sobre essa linda diversidade biológica descrita por Darwin.

Um agradecimento especial aos meus pais, Elias e Maria, meu pai sendo carpinteiro de obras e minha mãe sendo empregada doméstica, juntos lutaram tanto para que eu pudesse estudar. Minha eterna gratidão por todo o sacrifício deles.

Agradeço imensamente a minha esposa, Elaine. A mulher que me acompanhou em toda minha jornada acadêmica, me ajudou nos momentos difíceis e me motiva diariamente com seu sorriso e alegria.

Agradeço ao homem que eu tenho como exemplo, meu irmão Bruno, que sempre valorizou os estudos e me incentivou a permanecer nessa jornada. Obrigado pelos incentivos, pelos abraços e por acreditar em mim.

Desde cedo aprendi que nada se conquista sozinho, por isso o meu muito obrigado aos meus amigos do Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais, Elizabeth, Karine, Eduardo, Camila, Rosana, Rafael, Diego, Durval, Igor, Ana Clara Penha, Ana Clara Novaes, Larissa e todos que fizeram passagem por lá, muito deste trabalho é reflexo do auxílio de vocês desde as coletas das plantas, análises até os incentivos. E um agradecimento muito especial ao meu orientador, amigo e mentor, professor Doutor Marco Andre Alves de Souza, que teve uma participação essencial na minha formação acadêmica e profissional, um grande profissional que sempre me apoiou e buscou o meu melhor desempenho.

Obrigado aos meus amigos da minha Universidade de formação, a UNIRIO, Lukas, Adriano, Carolina e Jenifer por todo o apoio, incentivo e auxílio nos momentos de dificuldades acadêmicas e emocionais.

Agradeço ao meu programa de Pós-graduação o PPGCAF – UFRRJ, que me prestou todo o apoio financeiro para as saídas de campo e idas aos eventos acadêmicos, e aos professores do programa que lecionaram suas disciplinas com maestria. O mestrado neste programa foi uma experiência excepcional e enriquecedora.

“A educação é um ato de amor”, desta forma, agradeço especialmente a todos os mestres professores que passaram pela minha vida e me inspiraram a seguir a carreira docente, hoje me encontro realizado na minha área profissional e luto para inspirar meus alunos como vocês me inspiraram.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

MOREIRA, Ygor N. **Estudo da diversidade química de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) acessados no litoral norte fluminense-RJ e da atividade fungicida**. 2024. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais). Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

A pitangueira, *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), possui hábito arbustivo, é nativa da mata atlântica com grande ocorrência em ecossistemas de restinga. A pitanga é utilizada na culinária, medicina tradicional e apresenta importante papel ecológico. Todavia, tem sido explorada como fonte de produtos naturais, como os óleos essenciais, principalmente no preparo de cosméticos e na aromaterapia. Tendo em vista o potencial econômico que a pitangueira apresenta, foi proposto o estudo com base no teor (%) e na diversidade química dos óleos essenciais obtidos de plantas acessados *in situ*, bem como a atividade sobre fungos de interesse agrícola. Na primeira etapa, foi avaliada a cinética de destilação de folhas de pitangueira, visando compreender o efeito do tempo de destilação sobre o teor e o perfil químico dos óleos essenciais. A segunda etapa, consistiu em um trabalho de campo que permitiu a coleta de folhas, ramos e material propagativo de 20 espécimes de pitangueira, coletadas no litoral norte do Estado do Rio de Janeiro, que permitiu avaliar o teor (%) e o perfil químico dos óleos essenciais. Na terceira e última etapa, foi avaliado o potencial tóxico dos óleos essenciais obtidos de alguns exemplares sobre os fungos *Colletotrichum gloeosporioides* e *Pestalotia* sp, que são fitopatogênicos. A hidrodestilação de folhas secas foi o método utilizado para a obtenção dos óleos essenciais. O teor dos óleos essenciais foi calculado com base na matéria seca de folhas e expresso em teor (% *m/m*). A análise química dos óleos essenciais foi baseada na cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector de ionização por chama (CG-DIC) e ao espectrômetro de massa (CG-EM). A atividade toxica dos óleos essenciais contra os fungos foi realizada pelo método da diluição em meio de cultura batata-dextrose-agar, em diferentes concentrações. Os dados obtidos após os experimentos foram submetidos as análises estatísticas descritivas, univariadas e multivariadas para a interpretação dos dados. Os resultados da cinética de destilação de folhas de pitangueira demonstraram que o intervalo de tempo ótimo para a extração do óleo essencial se encontra entre 2h e 3h. No estudo de diversidade química de óleo essencial de *E. uniflora*, foi possível observar variações de 0,28 à 3,5% e média de 1,9% (*m/m*) para o teor de óleo essencial, sendo o maior teor observado na planta EU31. Foram identificadas 51 substâncias químicas, entre as quais selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido, globulol, germacreno B, espatulenol, curzereno e  $\beta$ -elemeno foram as que apresentaram maior frequência e/ou proporção no óleo essencial. Foi definido o nome para quimiotipos com base na dominância de substâncias no óleo essencial e, entre eles, o quimiotipo com maior frequência foi o selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido com 11 representantes. A análise de agrupamentos hierárquicos apontou a formação de 9 grupos de óleos essenciais com perfil químico semelhantes. Todos os óleos essenciais testados apresentam toxicidade contra fungos, com destaque ao obtido da planta EU31. Os resultados confirmaram a existência de quimiodiversidade intraespecífica para a pitangueira e potencial para a exploração biotecnológica da planta e dos óleos essenciais.

**Palavras-chave:** Myrtaceae, quimiodiversidade, voláteis, atividade biológica.

## ABSTRACT

MOREIRA, Ygor N. **Study of the chemical diversity of pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) accessed on the north coast of Rio de Janeiro-RJ and the fungicidal activity**. 2024. 95p. Dissertation (Master's in Environmental and Forestry Sciences). Institute of Forestry, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

The pitangueira, *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), has a shrubby habit, is native to the Atlantic forest with a large occurrence in restinga ecosystems. Pitanga is used in cooking, traditional medicine and has an important ecological role. However, it has been explored as a source of natural products, such as essential oils, mainly in the preparation of cosmetics and aromatherapy. Considering the economic potential that pitangueira presents, a study was proposed based on the content (%) and chemical diversity of essential oils obtained from plants accessed in situ, as well as the activity on fungi of agricultural interest. In the first stage, the distillation kinetics of pitangueira leaves were evaluated, aiming to understand the effect of distillation time on the content and chemical profile of essential oils. The second stage consisted of field work that allowed the collection of leaves, branches and propagative material from 20 specimens of pitangueira, collected on the north coast of the State of Rio de Janeiro, which allowed the content (%) and chemical profile to be evaluated. of essential oils. In the third and final stage, the toxic potential of essential oils obtained from some specimens on the fungi *Colletotrichum gloeosporioides* and *Pestalotia* sp, which are phytopathogenic, was evaluated. Hydrodistillation of dried leaves was the method used to obtain essential oils. The content of essential oils was calculated based on the dry matter of leaves and expressed as content (% *m/m*). The chemical analysis of essential oils was based on gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-DIC) and mass spectrometer (GC-MS). The toxic activity of essential oils against fungi was carried out using the dilution method in potato-dextrose-agar culture medium, at different concentrations. The data obtained after the experiments were subjected to descriptive, univariate and multivariate statistical analyzes for data interpretation. The results of the distillation kinetics of pitangueira leaves demonstrated that the optimal time interval for the extraction of the essential oil is between 2h and 3h. In the study of chemical diversity of *E. uniflora* essential oil, it was possible to observe variations of 0.28 to 3.5% and an average of 1.9% (*m/m*) for the essential oil content, with the highest content observed in the EU31 plant. 51 chemical substances were identified, including selene-1,3,7(11)-trien-8-one, selene-1,3,7(11)-trien-8-one epoxide, globulol, germacrene B, spatulenol, curzerene and  $\beta$ -elemene were those with the highest frequency and/or proportion in the essential oil. The name for chemotypes was defined based on the dominance of substances in the essential oil and, among them, the most frequent chemotype was selina-1,3,7(11)-trien-8-one/ selina-1,3, 7(11)-trien-8-one epoxide with 11 representatives. The analysis of hierarchical clusters showed the formation of 9 groups of essential oils with similar chemical profiles. All essential oils tested show toxicity against fungi, with emphasis on that obtained from the EU31 plant. The results confirmed the existence of intraspecific chemodiversity for pitangueira and the potential for biotechnological exploration of the plant and essential oils.

**Keywords:** Myrtaceae, chemodiversity, volatiles, biological activity.

## FIGURAS

**Figura 1.** Representantes com importância econômica das três tribos mais diversas da família Myrtaceae: A – *Corymbia citriodora* Hill & Johnson. Fonte: Adaptado de Hodel et al., (2016); B – *Eugenia uniflora* L. Acervo pessoal (2022) e C - *Syzygium aromaticum* L. Adaptado de RAJATEWA P. (2022). ..... 3

**Figura 2.** Mapa de ocorrência de pitangueira por exsicatas registradas (*E. uniflora*), marcações em verde são coordenadas georreferenciadas e marcações em vermelho são coordenadas inferidas. Fonte: Adaptado de Herbário virtual Flora do Brasil (2023). ..... 4

**Figura 3.** Análise de agrupamentos utilizando a distância genética imparcial de Nei em cinco populações de *E. uniflora*, calculada utilizando padrões de amplificação individuais do AFLP. Fonte: Adaptado de Salgueiro et al., (2004). ..... 5

**Figura 4.** Morfologia e anatomia da folha de *E. uniflora*. A – folha de pitanga evidenciando caracteres morfológicos; B – folhas jovens de pitanga escurecidas com antocianinas; fonte: acervo pessoal (2022). C – corte transversal do peciolo de pitanga, ep=epiderme, fv=feixe vascular, co=colênquima, cs=cavidade secretora; D – epiderme abaxial de pitanga, est=estômato; adaptado de SÁ; fonte: SANTANA; RANDAU, (2016). E – corte transversal do mesofilo de pitanga, eps=epiderme superior, pp=parênquima paliçádico, epi=epiderme inferior; F – detalhe da cavidade secretora no mesofilo de pitanga; fonte: adaptado de FIUZA et al., (2008). ..... 7

**Figura 5.** Relações ecológicas em *E. uniflora*. Detalhe das folhas parasitadas por galhadores (A); Pitangueira sendo visitada por vespas (B). Fonte: Acervo pessoal (2022). ..... 9

**Figura 6.** Cátion flavilium. R1 e R2 = -H, -OH, OCH<sub>3</sub>; R3 = - glicosil; R4 = -OH, -glicosil. Fonte: Adaptado de (BAGETTI et al., 2011). ..... 10

**Figura 7.** Principais carotenóides presentes no fruto de *E. uniflora*. (A) Licopeno, (B) β-cryptoxantina, (C) β-caroteno. Fonte: Adaptado de (PERIAGO; MARTÍNEZ-VALVERDE; ROS, 2001). ..... 10

**Figura 8.** Estruturas químicas dos principais terpenoides encontrados nos Óleos Essenciais das folhas de *E. uniflora*. Principal monoterpreno (a); principais sesquiterpenos hidrocarbonetos (b); principais sesquiterpenos oxigenados (c). (LAGO et al., 2011; SANTOS; BRAZ-FILHO; CASTRO, 2015). Fonte: Adaptado de Addams, (2017). ..... 11

**Figura 9.** Síntese de geranilpirofosfato (GPP) com dois isômeros isoprenoides Dimetilalil difosfato (DMAPP) e difosfato de isopentenil (IPP). Fonte: Adaptado de Szkopinska & Plochocka (2005). ..... 13

<b>Figura 10.</b> Via metabólica do mevalonato (MEV) para a síntese de isoprenos. Fonte: Adaptado de Dewick (2009). .....	14
<b>Figura 11.</b> Via metabólica metileritritol fosfato (MEP) para a síntese de isoprenos. Fonte: Adaptado de Dewick (2009).....	15
<b>Figura 12.</b> Panorama de biossíntese de terpenóides a partir da construção de isoprenos via MEV e MEP. Fonte: Adaptado de Dewick (2009).....	16
<b>Figura 13.</b> Processo de extração do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> através do método físico de hidrodestilação. Extração em aparelho tipo Clevenger modificado (A); Secagem do óleo essencial através de filtração com sulfato de sódio anidro (B); Retirada do solvente diclorometano com gás nitrogênio (C); Óleo essencial durante a extração na vidraria (D). Fonte: Acervo pessoal (2022). .....	20
<b>Figura 14.</b> Mapa do Estado do Rio de Janeiro com demarcações de seus ecossistemas e pontos vermelhos marcando os locais de coleta de <i>E. uniflora</i> no litoral norte do Estado georreferenciados. Fonte: Adaptado de INEA (2023). .....	22
<b>Figura 15.</b> Exsicata de <i>E. uniflora</i> montada. Fonte: Acervo pessoal (2022). .....	24
<b>Figura 16.</b> Esquema da preparação das soluções de BDA com diferentes concentrações de óleo essencial. Para a preparação da cada concentração foi adicionado no BDA 1mL da solução padrão, após cada produção adicionou-se mais 1mL de DMSO na solução padrão, diminuindo a concentração da mesma (a). Fonte: Acervo pessoal. ....	26
<b>Figura 17.</b> Processo de preparo de soluções e repicagem dos fungos em câmara de fluxo laminar. Fonte: acervo pessoal. ....	27
<b>Figura 18.</b> Hidrodestilação de folhas secas de pitangueira. Massa (g) de óleo essencial obtido nos diferentes intervalos de destilação (a). Cinética de destilação com base no teor (% m/m) de óleo essencial acumulado nos diferentes intervalos de tempo (b). Os símbolos representam as médias das amostras e as barras indicam o desvio padrão dos dados. O gráfico b apresenta a equação da curva produzida através da regressão e o R <sup>2</sup> . .....	29
<b>Figura 19.</b> Descrição do teor (% m/m) de óleo essencial obtido das folhas de 20 espécimes de pitangueira acessados no estado do Rio de Janeiro. Gráfico de Boxplot, a linha central representa a mediana, a cruz representa a média, as barras indicam o desvio padrão e os círculos o teor de óleo essencial obtido dos 20 acessos investigados. ....	33

**Figura 20.** Óleos essenciais com diferentes cores (a). Mapa do Estado do Rio de Janeiro associado a imagens dos frascos de coleta dos óleos de *E. uniflora* (b). Gráfico com teor (% m/m) de óleo essencial em função das cores observadas durante e após a extração, as barras representam a média do teor de óleo essencial e as linhas no topo das barras representam o desvio padrão entorno da média, letras iguais representam resultado não significativo pelo teste de Tukey (5%) (c). Gráfico com teor (% m/m) de óleo essencial em função dos municípios de coleta (d).....34

**Figura 21.** Análise descritiva das substâncias de maior frequência e concentração, a linha central representa a média, as barras indicam o desvio padrão e os círculos são as concentrações dos compostos. Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (A); selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido (B); espatulenol (C); germacreno B (D); curzereno (E); elemeno  $\beta$ - (F).....42

**Figura 22.** Agrupamento por análise visual dos arranjos químicos (chemoarrays). As cores representam as 10 substâncias com maiores concentrações, sendo maior que 15% em pelo menos um óleo e/ou 70% de frequência (a); gráficos de rosca organizados em ordem de coleta das plantas (b); grupos formados por similaridade de substâncias (c), (d) e (e); grupo misto sem similaridade visual (f).....45

**Figura 23.** Análise de agrupamentos hierárquicos, dissimilaridade química, pelo método UPGMA e baseado na distância Euclidiana estimado entre variáveis independentes (20 óleos essenciais) e dependentes (20 substâncias químicas). Os gráficos de rosca coloridos representam os óleos essenciais de cada uma das 20 plantas acessada in situ e as cores a proporção de cada uma das 10 substâncias majoritárias em relação ao total. A linha azul tracejada representa o ponto de corte ótimo com base no método KGS e os algarismos arábicos (1-5) representam os grupos similares. As cores dispostas nas linhas do dendrograma representam a legenda das substâncias majoritárias identificadas por cores.....46

**Figura 24.** Gráficos de barras de experimentos de atividade biológica em fungos de interesse agrícola com tratamentos de diferentes quimiotipos de *E. uniflora*. Quimiotipos EU31, EU42 e EU25 contra *C. gloeosporioides* (a, c, e); quimiotipos EU31, EU24 e EU28 contra *Pestalotia* sp. (b, d, f). As barras representam as médias e as linhas acima das barras representam o desvio padrão, letras diferentes indicam diferença estatística (teste Tukey). .....48

**Figura 25.** Curva de dose-resposta utilizando modelo estatístico não-linear com a finalidade de estabelecer a concentração de óleo essencial necessário para inibir o crescimento dos fungos em 50% (CI50). Quimiotipos EU31, EU42 e EU25 contra *C. gloeosporioides* (a, c, e); quimiotipos EU31, EU24 e EU28 contra *Pestalotia* sp. (b, d, f). .....49

## TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Análise de composição química aproximada de macromoléculas em <i>E. uniflora</i> . .	10
<b>Tabela 2.</b> Componentes majoritários de espécies do gênero <i>Eugenia</i> , próximas filogeneticamente.....	12
<b>Tabela 3.</b> Patógenos e as respectivas concentrações de óleo essencial de <i>E. uniflora</i> que exerceram atividade biológica. ....	17
<b>Tabela 4.</b> Informações das exsicatas depositadas no herbário da UFRRJ.....	23
<b>Tabela 5.</b> Cinética de extração de óleo essencial de <i>E. uniflora</i> por hidrodestilação, a partir das folhas de pitangueiras.....	29
<b>Tabela 6.</b> Composição química de amostras de do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> isolados em diferentes intervalos de tempo.....	31
<b>Tabela 7.</b> Composição química do óleo essencial de folhas de <i>E. uniflora</i> acessados em diferentes localidades no estado do Rio de Janeiro. ....	38
<b>Tabela 8.</b> Principais substâncias encontradas nos óleos essenciais <i>Eugenia uniflora</i> .....	41
<b>Tabela 9.</b> Quimiotipos elucidados dentro da população estudada de <i>E. uniflora</i> do litoral norte do Rio de Janeiro.....	43
<b>Tabela 10.</b> Concentração necessária de óleo essencial para inibir o crescimento dos fungos em 50% (CI50) . ....	52

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>2</b>
2.1. Origem e distribuição .....	2
2.2 Características botânicas .....	5
2.2.1 Características morfológicas e polimorfismos .....	5
2.2.2 Características anatômicas .....	5
2.3 Relações ecológicas .....	8
2.4 Características fitoquímicas .....	9
2.5 Biosíntese de terpenos .....	12
2.6 Uso medicinal tradicional .....	15
2.7 Propriedades biológicas .....	16
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
3.1 Objetivos gerais .....	17
3.2 Objetivos específicos .....	17
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
4.1 Cinética de destilação dos óleos essenciais de <i>E. uniflora</i> .....	18
4.1.1 Destilação .....	18
4.1.2 Teor (% <i>m/m</i> ) .....	19
4.1.3 Análise dos óleos essenciais por CG-DIC e CG-EM .....	20
4.2 Diversidade in situ do óleo essencial <i>Eugenia uniflora</i> .....	20
4.2.1 Regularização e desenvolvimento de pesquisa .....	20
4.2.2 Prospeção, identificação e coleta .....	20
4.2.3 Produção de exsiccatas e tombamento .....	21
4.2.4 Destilação, rendimento ( <i>m/m%</i> ) e análise química .....	23
4.2.5 Caracterização dos quimiotipos .....	23
4.2.6 Análise visual de arranjos químicos (chemoarrays).....	23
4.3 Teste de atividade antifúngica .....	24
4.3.1 Material .....	24
4.3.2 Preparo da solução teste .....	24
4.4 Estatística .....	26
4.4.1 Análises descritivas .....	26
4.4.2 Matriz de dados .....	27
4.4.3 Análise de agrupamentos hierárquicos .....	27
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>

5.1 Cinética de extração do óleo essencial de pitangueira .....	28
5.2 Diversidade química do óleo essencial de pitangueira: Análise quantitativa .....	32
5.3 Diversidade química do óleo essencial de pitangueira: Análise qualitativa .....	35
5.4 Atividade biológica contra fungos de interesse agrícola .....	47
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>53</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>53</b>
<b>8. APÊNDICES .....</b>	<b>61</b>

## 1. INTRODUÇÃO

*Eugenia uniflora* L. conhecida popularmente como pitangueira, cereja do Brasil ou pitanga, é uma planta da família Myrtaceae, nativa do bioma Mata Atlântica com maior ocorrência em ecossistemas de restinga, local onde se apresenta com hábito arbustivo. A pitanga também ocorre em ecossistemas de floresta ombrófila onde estabelece o hábito arbóreo (Salgueiro *et al.*, 2004), essa planta possui relevância no mercado de ornamentação, apresenta diversas propriedades medicinais como, atividade hipoglicêmica, contra náuseas, dores intestinais, amigdalite e hipertensão, e seus frutos são utilizados na culinária tradicional para a produção de doces e bebidas (Donadio *et al.*, 2002; Máthé; Bandoni, 2021).

O óleo essencial de *E. uniflora* extraído de suas folhas, possui uma rica variedade de terpenoides, sendo os sesquiterpenos a família de substâncias mais abundantes (Stefanello, 2011). Alguns sesquiterpenos se destacam estando em grande quantidade nos óleos essenciais das folhas de pitangueira como o curzereno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e germacreno B (Cipriano; Maia; Deschamps, 2021). Essa riqueza em compostos aromáticos garante a essa espécie da nossa mata atlântica potencial cosmético e biotecnológico (Lima, 2011; dos Santos *et al.*, 2018), além do potencial medicinal estabelecido através do conhecimento etnobotânico.

Aprofundando um olhar para a variabilidade química da espécie, alguns trabalhos apontam uma alta diversidade de sesquiterpenos nos óleos essenciais de diferentes genótipos em estados do Sul do Brasil (Becker *et al.*, 2017). Cipriano *et al.*, (2021) em um estudo com 36 genótipos no estado do Paraná encontrou seis grupos químicos, evidenciando a diversidade química intraespecífica em *E. uniflora*. A literatura também aponta uma plasticidade fenotípica na expressão de alguns compostos terpenoides presentes nas folhas de pitangueira em decorrência da sazonalidade e período reprodutivo em espécimes no cerrado do Brasil (Costa *et al.*, 2009). Em outros órgãos desta planta, também existe uma variabilidade a ser explorada e analisada, como em frutos onde a elucidação de compostos com valor nutricional são essenciais para tratar a pitanga como possibilidade de inclusão no cardápio da população brasileira (Pereira *et al.*, 2021).

Reunir informações relevantes sobre espécies botânicas nativas é de extrema importância para fomentar desenvolvimento biotecnológico, o que leva a conservação não só da espécie em estudo, mas de um ecossistema inteiro, além disso esse conhecimento serve de alicerce para se trabalhar o uso sustentável dos recursos genéticos (Delwing *et al.*, 2007). Se tratando da pitangueira, sua ocorrência é majoritariamente em ecossistema de restinga, que vem sofrendo historicamente grande degradação devido a processo de urbanização irregular, toda essa intervenção antrópica predatória faz com que a pitanga seja uma das espécies que esteja passando pelo processo de erosão genética (Clement; Müller; Flores, 1982). O fenômeno de erosão genética é proveniente da ação humana nos ecossistemas e alguns fatores que podem provoca-lo são o extrativismo, perda de habitat, competição com espécies exóticas e seleção de cultivares (Delwing *et al.*, 2007; Machado; Machado; Nass, 2011).

Quando se trata da riqueza de sesquiterpenos no óleo essencial de pitanga, a atividade biológica é uma área importante a ser explorada, no entanto, são escassos estudos com testes para essa espécie botânica. Alguns trabalhos apontam potencial medicinal para o óleo essencial de *E. uniflora*. Sobeh *et al.*, (2016) encontraram atividade antibacteriana moderada contra bactérias de interesse médico, incluindo *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, além disso são relatadas atividade antifúngica contra *Candida* spp. e *Paracoccidioides* spp. (Sobeh *et al.*, 2016; dos Santos *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2020).

Apesar dos potenciais explorados para essa espécie, os estudos foram iniciais, o que não elucidou de forma concreta a atividade biológica deste óleo essencial para esses patógenos.

Outros trabalhos utilizando pitangueira apontam atividade antiprotazoários do óleo essencial contra *Leishmania amazonensis* e ação antioxidante (Stefanello; Pascoal; Salvador, 2011; Rodrigues *et al.*, 2013; dos Santos *et al.*, 2018), apesar disso, são escassos estudos com teste em fungos de interesse agrícola, sendo esse um desafio para a pesquisa acadêmica que visa o desenvolvimento de tecnologias destinadas a agricultura livre de agrotóxicos.

Além do potencial biotecnológico, diversidade química e genética de *E. uniflora*, existe ainda a importância da pesquisa com base nessa espécie nativa com o objetivo de promover conhecimento, proteção e exploração sustentável deste recurso natural. Diante da urbanização irregular que ocorre em todo Estado do Rio de Janeiro, as populações de plantas nativas sofrem uma diminuição drástica em número de indivíduos e perda de habitat (Machado, 2017).

Apesar de uma vasta literatura elucidando composição química do óleo essencial de pitangueira no Brasil, quando a proposta de pesquisa passa a ser diversidade química da espécie no Estado do Rio de Janeiro não existem pesquisas sobre a planta. Logo, analisar e elucidar as diferenças químicas nos óleos essenciais em diferentes espécimes que ocorrem em áreas naturais no Rio de Janeiro torna-se necessário, tendo em vista a conservação de *E. uniflora* e futuras aplicações biotecnológicas (Garcia *et al.*, 2021), partindo do pressuposto que essa espécie apresenta grande diversidade genética em populações silvestres (Ferreira-Ramos *et al.*, 2014).

Neste contexto, o presente estudo tem como principal objetivo explorar a diversidade química da espécie *Eugenia uniflora* em ambiente natural (*in situ*), no litoral Norte Fluminense do Rio de Janeiro, RJ, Brasil, região essa que não possui grandes informações acerca da espécie. Para a pesquisa, foi realizada uma prospecção, coleta de material vegetal de espécimes, extração do óleo essencial e análise do perfil químico com o objetivo de elucidar a diversidade química dessa população. Além disso, foram realizadas análises multivariadas e experimentos *in vitro* para investigar o potencial antifúngico do óleo essencial de pitangueira.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Origem e distribuição

A família Myrtaceae apresenta uma rica diversidade de plantas, com cerca de 140 gêneros e mais de 5760 espécies distribuídas por todo o Mundo, com o pico de diversidade em regiões tropicais e uma predominância de espécies na América do Sul (Lima; Caddah; Goldenberg, 2015; Wilson, 2010). No Brasil são 29 gêneros conhecidos e cerca de 1195 espécies identificadas, das quais mais de 700 são nativas tendo sua distribuição em ecossistemas da Mata Atlântica, Amazônia e Cerrado (Proença *et al.*, 2017; Wilson, 2010).

Dentro da família há três tribos que se destacam com a maior riqueza de espécies, são elas, Eucalyptae, Myrteae e Syzygieae, essas tribos possuem representantes popularmente conhecidos e com importância econômica, como exemplo temos respectivamente, o Eucalipto (*Eucalyptus* spp. e *Corymbia* spp.), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e cravo da Índia (*Syzygium aromaticum* L.) (Figura 1). A tribo Myrteae se destaca pela sua rica distribuição neotropical e com o centro de diversidade na América Latina, sendo principalmente composta pelos gêneros *Plinia* L., *Myrcia* DC., *Myrceugenia* O. Berg, *Myrteola* O. Berg, *Pimenta* Lindl. e *Eugenia* L. (Lucas *et al.*, 2007).

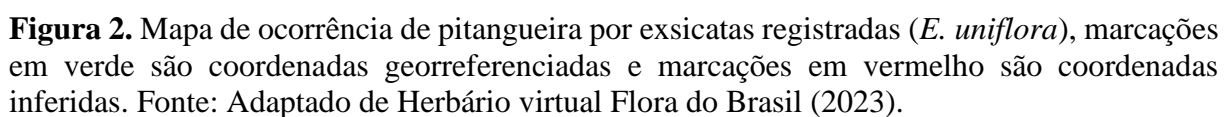


**Figura 1.** Representantes com importância econômica das três tribos mais diversas da família Myrtaceae: A – *Corymbia citriodora* Hill & Johnson. Fonte: Adaptado de Hodel *et al.*, (2016); B – *Eugenia uniflora* L. Acervo pessoal (2022) e C - *Syzygium aromaticum* L. Adaptado de Rajatewa P. (2022).

O gênero *Eugenia* L. foi nomeado em homenagem ao Príncipe Chileno Eugenio de Saboya, um nobre militar entusiasta da natureza (Máthé; Bandoni, 2021), esse grupo possui grande representatividade dentro da família Myrtaceae. Se tratando das espécies neotropicais, esse é o gênero que apresenta maior diversidade, com aproximadamente 1100 espécies distribuídas no México, Cuba, Antilhas, Brasil até o extremo Sul da América do Sul no Uruguai e Argentina, possuem ainda poucos representantes ocorrendo no continente africano, sudeste da Ásia e em algumas ilhas do Pacífico (Mazine *et al.*, 2018). Análises filogenéticas apontam o surgimento do gênero para 30,3 milhões de anos atrás na época do Oligoceno no período Paleógeno, tendo o ancestral do grupo ocorrido provavelmente em floresta atlântica. *Eugenia* apresenta uma relação monofilética com os gêneros *Calycorectes* O.Berg, *Hexachlamys* O.Berg, *Phyllocalyx* O.Berg e *Stenocalix* O.Berg, e em parâmetros de diversidade é o maior gênero dentro desse clado (Mazine *et al.*, 2014, 2018).

No Brasil a diversidade do gênero é muito expressiva, são aproximadamente 407 espécies, essa riqueza de diversidade torna *Eugenia* o gênero com maior número de espécies em nosso país (Mazine *et al.*, 2023). Aprofundando-se nas ocorrências nos biomas, a Mata

Conhecida popularmente como pitanga, pitangueira, cereja brasileira ou cereja do suriname, a nomenclatura “pitanga” tem origem na palavra indígena, do Tupi pi`tãg, que significa vermelho, em referência a cor do fruto (Donadio *et al.*, 2002), *E. uniflora* é uma planta nativa que possui relevância no mercado de ornamentação, apresenta propriedades medicinais e usos dos frutos na culinária tradicional. O principal sinônimo da espécie é *Stenocalyx uniflorus* (L.) Kausel, ademais existem outras 42 sinônimas até o momento (Máthé; Bandoni, 2021). A pitanga ocorre em uma ampla faixa territorial, destacando-se as regiões costeiras do Brasil (Figura 2), ambiente que é composto majoritariamente por ecossistema de restinga (Mazine *et al.*, 2020). Essa espécie é classificada como Pantropical, apresenta uma boa adaptação na extensão territorial de clima tropical em outros continentes, desta forma, sua introdução ocorreu em países da América Central, África e Ásia, além de ocorrência documentada em ilhas do Pacífico (Royal Botanic Gardens, 2023).



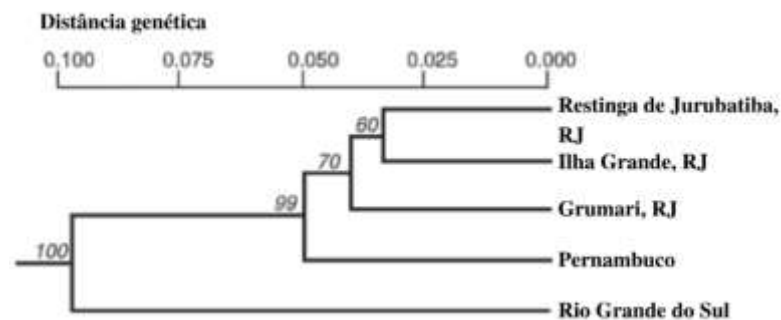
4

através de uma análise filogenética que *Eugenia spitata*, *Eugenia supraaxillaris* e *Eugenia pyriformis* são as espécies não extintas mais próximas de *E. uniflora*. Essas espécies ocorrem em região Amazônica e localidades ao Sul do Brasil, respectivamente, essa expansão territorial evidencia a capacidade de dispersão do gênero, sendo esse um dos motivos da alta diversidade, adaptabilidade e especiação de *Eugenia*.

## 2.2 Características botânicas

### 2.2.1 Características morfológicas e polimorfismos

A pitanga é uma planta com o hábito arbustivo em ecossistemas de restinga com alta incidência luminosa e ventos, podendo atingir uma altura de até 2 metros, e também pode apresentar o hábito arbóreo em ecossistemas de floresta ambrófila variando de 4 à 5 metros de altura e raramente atingindo de 8 a 12 metros (Salgueiro *et al.*, 2004). Além do polimorfismo anatômico observados em *E. uniflora*, trabalhos amostrais apontam uma alta taxa de polimorfismo genético na espécie levando em consideração a comparação de populações do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Pernambuco, com a técnica AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). Salgueiro *et al.*, (2004) apontou populações do RS com uma maior taxa de polimorfismo genético (78,9%), enquanto no RJ populações de Grumari, Restinga de Jurubatiba e Ilha Grande, RJ, obtiveram taxa de polimorfismo entre 49% e 40%. A flexibilidade adaptativa da espécie é resultado da sua ocorrência por quase todo litoral brasileiro que são fatores que catalisam o surgimento de polimorfismos intraespecíficos (Figura 3).



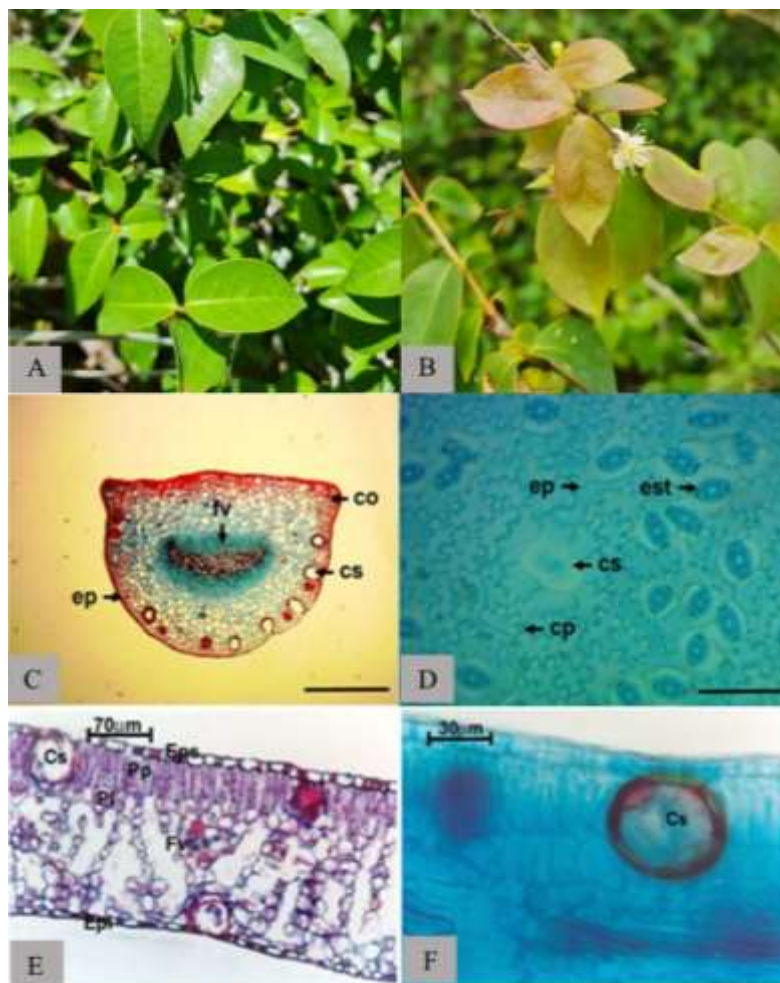
**Figura 3.** Análise de agrupamentos utilizando a distância genética imparcial de Nei em cinco populações de *E. uniflora*, calculada utilizando padrões de amplificação individuais do AFLP. Fonte: Adaptado de Salgueiro *et al.*, (2004).

A fragmentação dos habitats próximos a grandes cidades, pode causar um processo de erosão genética e perda dessa variabilidade entre os indivíduos dessa espécie (Sebbenn; Ettori, 2001; Aguiar *et al.*, 2013). A redução contínua de populações nativas pode acarretar a perda de genes por deriva genética, e Aguiar *et al.*, (2013) apontam que populações de pitanga em ambientes degradados apresentam menor variabilidade genética e por consequência menor polimorfismo. Espécies arbóreas, como a pitanga, tendem a ter uma menor variação por conta do ciclo de vida e especialmente se tratando de espécies com reprodução cruzada, pela obrigatoriedade das relações mutualísticas e dispersão de sementes por animais (Hamrick, 2004).

### 2.2.2 Características anatômicas

*E. uniflora* apresenta folhas simples pecioladas, penínérveas com a consistência subcoriácea, ovada e superfície lisa (Franzon, 2008; Rolim *et al.*, 2016). Sua filotaxia é oposta, a área superficial do limbo mede cerca de 7 x 3cm de largura, sem tricomas (Sá; Santana; Randau, 2016) ou com tricomas nos pecíolos em raras exceções (Haron; Moore, 1996), com coloração verde escura, brilhosas podendo apresentar variações em folhas jovens para o avermelhado devido a antocianinas (Bagetti *et al.*, 2011; Rolim *et al.*, 2016) (Figura 4 – A e B).

Observando as estruturas anatômicas, o pecíolo em corte transversal apresenta formato biconvexo com projeções laterais superiores e um feixe vascular único bicolateral, além da presença de cavidades secretoras subepidérmicas (Fiuza *et al.*, 2008), a lâmina é hipoestomática com estômatos do tipo anomocíticos, é possível observar nas duas faces do limbo cavidades secretoras, cristais dos tipos drusas e cristais prismáticos. No mesofilo, são observados feixes vasculares bicolaterais, mais cavidades secretoras e cristais de oxalato de cálcio, a disposição dos tecidos no mesofilo é dorsiventral com parênquima paliçádico bisseriado voltado para a superfície adaxial e parênquima esponjoso voltado para a superfície abaxial (Sá; Santana; Randau, 2016; Beschorner; Bündchen, 2020). Trabalhos mostram substâncias de natureza terpênica e lipídica mapeados em quantidades relevantes nas cavidades secretoras, em menor quantidade em células epidérmicas e em células parenquimáticas do mesofilo, destacando esse órgão como o material mais importante para a extração de Óleos Essenciais (Fiuza *et al.*, 2008; Sá; Santana; Randau, 2016; Beschorner; Bündchen, 2020) (Figura 4).



**Figura 4.** Morfologia e anatomia da folha de *E. uniflora*. A – folha de pitanga evidenciando caracteres morfológicos; B – folhas jovens de pitanga escurecidas com antocianinas; fonte: acervo pessoal (2022). C – corte transversal do pecíolo de pitanga, ep=epiderme, fv=feixe vascular, co=colênquima, cs=cavidade secretora; D – epiderme abaxial de pitanga, est=estômato; adaptado de Sá; fonte: Santana; Randau, (2016). E – corte transversal do mesófilo de pitanga, eps=epiderme superior, pp=parênquima paliçádico, epi=epiderme inferior; F – detalhe da cavidade secretora no mesófilo de pitanga; fonte: adaptado de Fiuza *et al.*, (2008).

O caule de *E. uniflora* é do tipo lenhoso com diâmetros que variam de acordo com o hábito de cada indivíduo, em geral ocorre em forma de arvoreta (Romagnolo; de Souza, 2006). Fiuza *et al.* (2008) avaliou o caule de pitanga na altura de segundo entrenó, o formato apresentado pelo caule é oval com epiderme unisseriada com a presença de algumas cavidades secretoras logo abaixo, uma bicamada de colênquima e parênquima cortical com células isodiamétricas de vários tamanhos, existe também a presença de drusas e cristais prismáticos no tecido parenquimático cortical e medular. O cilindro vascular com notável crescimento secundário e disposição de tecidos vasculares típica de eudicotiledôneas, com xilema interno e floema externo separados pelo câmbio. As estruturas caulinares de *E. uniflora* apresentam baixa diversidade de grupos químicos se tratando de componentes provenientes do metabolismo especializado, contendo fenol, taninos e flavonóides (Uchechukwu; Jamila Hussein; Asuquo, 2011).

As flores de pitanga apresentam coloração branca devido as pétalas, com destaques centrais amarelados devido aos estames. São axilares e estão dispostas em inflorescências racemosas auxotéticas em ramos com poucas folhas e com mais de duas flores por axila, os ferofilos são ovados e glabros. Botões florais com comprimento de 4-5mm, glabros, reflexas na antese, oblongos a lanceolados, pétalas com 5x3mm obovadas, glabras nas duas faces; androceu polistêmone com disco estaminal em formato retangular, glabro, estames com 3-5mm de comprimento tendo em média 15 estames por flor, anteras globosas com duas tecas e de deiscência longitudinal; ovário infero bilocular e pluriovulado, glabro, estilete 3-4mm de comprimento, glabro (Romagnolo; de Souza, 2006; Silva; Pinheiro, 2007).

Flores hermafroditas sem produção de nectar, suas flores são denominadas “flores-pólen”, sendo esse o único recurso floral para atrair polinizadores. No período da manhã há a liberação de odores adocicados secretados pelas anteras, casos de autofecundação podem ocorrer para a espécie (Silva; Pinheiro, 2007). Os frutos são subglobosos do tipo baga, 10-15mm de diâmetro podendo alcançar 30 mm, multicostados, glabros, com coloração variando de alaranjado a avermelhado quando maduros, o sabor é doce com uma leve adstringência característica da espécie (Romagnolo; de Souza, 2006; Silva, 2010).

A pitanga apresenta capacidade de reprodução assexuada através de enxertia de diversas variações, todavia o tipo mais eficaz é o de fenda cheia (Frazon, 2008), estaquias também são opções para a propagação vegetativa da espécie (Lattuada, 2014). A idade ontogênica dos ramos podem influenciar na sua viabilidade, segundo Lattuada (2014) ramos semilenhosos possuem maior taxa de viabilidade e retenção foliar em relação a ramos herbáceos, apesar de um baixo índice de enraizamento sendo apontado para essa estratégia propagativa.

Se tratando da floração, antese das flores em *E. uniflora* ocorre entre 6 e 7 horas da manhã, suas estruturas florais duram apenas um dia. O padrão de floração é anual, em massa e seu período reprodutivo ocorre entre os meses de julho e dezembro, com pico de floração e visitação em agosto e setembro (Fidalgo *et al.*, 2019), e os frutos ocorrem em maior intensidade nos meses de outubro e novembro. A germinação das sementes acontece em cerca de 25 a 40 dias, no entanto, dependendo da viabilidade da semente e qualidade do solo o período germinativo pode demorar até 100 dias (da Silva; Pinheiro, 2009; Fidalgo *et al.*, 2019). Fidalgo *et al.*, (2019), apontou que sementes advindas de polinização cruzada apresentam uma maior viabilidade e um melhor desenvolvimento da plântula em relação a sementes provenientes de autofecundação. Pitanga é uma planta classificada como xenógama facultativa, que pode produzir frutos através da autofecundação, ademais, é necessária a presença de polinizadores para uma maior frutificação com a fecundação cruzada (Fidalgo *et al.*, 2019).

### 2.3 Relações ecológicas

As visitas de artrópodes na pitangueira são recorrentes em seu período reprodutivo, tanto na floração como na frutificação. As folhas de pitanga são comumente parasitadas por vespas da espécie *Rileya hegei* (Hymenoptera), e galhadores da espécie *Eugeniomyia dispar* (Diptera), esses parasitas são responsáveis pela formação de galhas nas folhas (Figura 5). *E. dispar* realiza postura nas folhas da pitanga e as larvas ao eclodirem penetram no tecido foliar e provocam a galha, que é caracterizada pela hipertrofia das células foliares e diminuição de clorofila nas folhas. A larva do galhador em seu último instar sai da galha e entra no estágio de pupa no solo (Bierhals *et al.*, 2012). Se tratando da *Rileya hegei*, esse himenóptero é um parasitóide oportunista que utiliza a galha produzida pelas larvas de *E. dispar* para ovopositar

e parasitar as larvas de galhador em instares finais, neste caso essas vespas são importantes parasitas para o controle do galhador (Bierhals *et al.*, 2012).



**Figura 5.** Relações ecológicas em *E. uniflora*. Detalhe das folhas parasitadas por galhadores (A); Pitangueira sendo visitada por vespas (B). Fonte: Acervo pessoal (2022).

Vespas sociais da subfamília Polistinae são encontrados constantemente forrageando plantas de *E. uniflora*, esses insetos são predadores que forrageiam frutos em busca de larvas de coleópteros, dípteros e lepidópteros, principalmente moscas (Souza *et al.*, 2013).

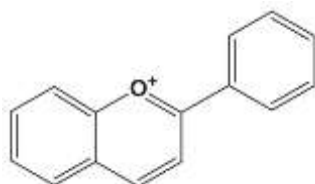
A reprodução sexuada em *E. uniflora* é extremamente influenciada por polinizadores, visto que a espécie possui baixo sucesso reprodutivo por autogamia e não apresenta evidências de anemofilia (Pelacani *et al.*, 2000). Diversas ordens de hexapodes realizam visitação floral em *E. uniflora*, destacando-se as ordens Hymenoptera, Diptera, Coleoptera e Neuróptera (Silva; Pinheiro 2007). As abelhas *Apis Melífera* L., 1758 (Apidae) e espécies da família Syrphidae (Diptera) protagonizam o maior número de visitas na pitanga (Pelacani *et al.*, 2000; Silva; Pinheiro, 2007; da Silva; Pinheiro, 2009). Espécies exóticas, como a abelha africanizada, quando bem adaptadas ocupam o mesmo nicho de espécies nativas, o que provoca competição e consequente alteração no padrão de forrageamento das espécies locais como *Augochloropsis* sp., *Bombus* sp., *Dialictus* sp e *Tetragonisca* sp., o que acarreta na perda de diversidade local de polinizadores (Diniz; Buschini, 2016; Fidalgo *et al.*, 2019).

## 2.4 Características Fitoquímicas

A pitangueira apresenta uma rica diversidade química em suas diferentes estruturas. Em seus frutos destacam-se macronutrientes de alto valor energético, como é mostrado na Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO) (UNICAMP, 2011): em 100g de pitanga existe 0,9g de proteínas, lipídeos 0,2g, 10,2g de carboidratos, 3,2g de fibras, além disso, no fruto também são encontrados micronutrientes importantes, tais como Calcio (18mg) e magnésio (12mg). Também é encontrado um alto teor de flavonóides, compostos que garantem propriedade antioxidante ao fruto, além de um teor de 24mg/100g de vitamina C.

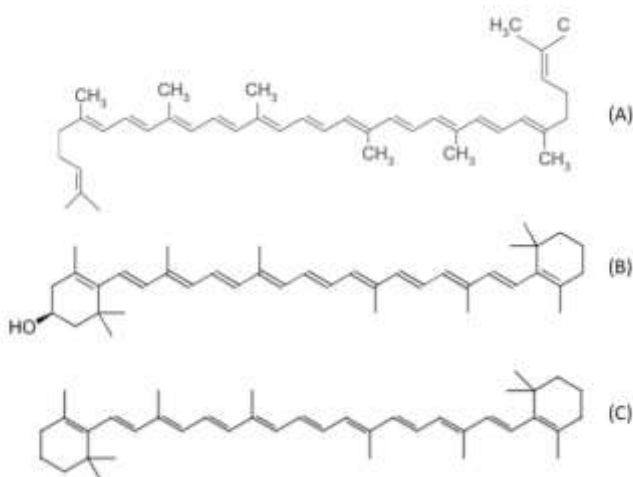
A presença de compostos fenólicos, catecóis e taninos são marcantes no fruto da pitanga, evidenciando a principal característica do sabor adstringente marcante do fruto. As antocianinas

também se destacam pelo provimento da cor da pitanga, a cor roxeada aponta a fase mais madura da fruta e também o estágio com maior concentração de antocianinas. A estrutura básica das antocianinas é o cátion flavilium (Figura 6) (Bagetti *et al.*, 2011). É importante destacar que esses compostos variam com o decorrer do amadurecimento do fruto (Bagetti *et al.*, 2011; L. Franzon *et al.*, 2018).



**Figura 6.** Cátion flavilium. Fonte: Adaptado de (Khoo *et al.*, 2017).

Pigmentos carotenóides também apresentam uma relativa diversidade nos frutos de *E. uniflora*, apresentando funções de captação de luz e atração de dispersores de sementes, destacam-se o licopeno,  $\beta$ -cryptoxantina e  $\beta$ -caroteno (Figura 7). Segundo Bagetti *et al.*, (2011), licopeno é o carotenóide mais abundante em pitanga com 166 $\mu$ g/g de fruto.



**Figura 7.** Principais carotenóides presentes no fruto de *E. uniflora*. (A) Licopeno, (B)  $\beta$ -cryptoxantina, (C)  $\beta$ -caroteno. Fonte: Adaptado de (Periago; Martínez-Valverde; Ros, 2001).

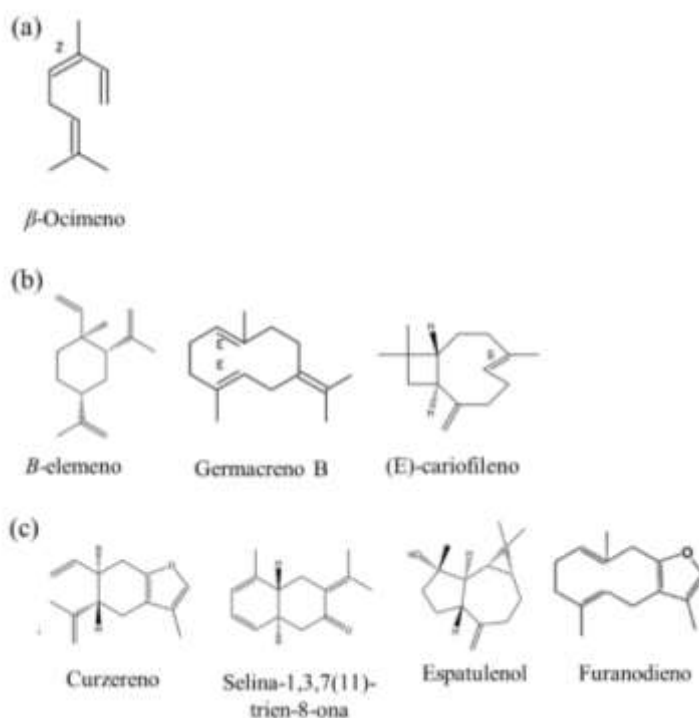
Avaliando as concentrações de macromoléculas e micronutrientes nas folhas, caule e raiz, a pitangueira apresenta uma alta concentração em carboidratos e poucas variações quando comparado em cada órgão vegetal (Uchechukwu; Jamila Hussein; Asuquo, 2011). Os glicídios em grandes concentrações se destacam pelos estoques de reservas energéticas e por conta da celulose presente na parede celular.

**Tabela 1.** Análise de composição química aproximada de macromoléculas em *E. uniflora*.

Parâmetro	Folha (%)	Caule (%)	Raiz (%)
Cinzas	9,24	3,57	7,00
Lipídeos	1,95	1,52	5,15
Proteínas	9,58	6,21	7,23
Carboidratos	70,95	79,73	72,79
Ácidos graxos	1,60	1,22	4,12
Fibra bruta	1,27	0,67	0,33

Fonte: Adaptado de UCHECHUKWU; JAMILA HUSSEINI; ASUQUO (2011).

Se tratando da folha de pitangueira, os terpenoides se destacam em variedade nesta planta, principalmente sesquiterpenos (stefanello; pascoal; salvador, 2011; cipriano; maia; deschamps, 2021). O quantitativo de monoterpenos é baixo (Figura 8 – a), tendo como destaque apenas o  $\beta$ -Ocimeno e linalool com percentuais abaixo de 3%. Os principais sesquiterpenos não oxigenados regularmente presentes na folha de pitangueira são  $\beta$ -Elemeno, Germacreno B e (E)-cariofileno (Figura 8 – b). A riqueza de sesquiterpenos oxigenados é evidente para *E. uniflora*, dentre os mais abundantes estão Curzereno, Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, Epatulenol, atractilona e furanodieno (Lago *et al.*, 2011; Santos; Braz-Filho; Castro, 2015) (Figura 8 – c).



**Figura 8.** Estruturas químicas dos principais terpenoides encontrados nos Óleos Essenciais das folhas de *E. uniflora*. Principal monoterpene (a); principais sesquiterpenos hidrocarbonetos (b); principais sesquiterpenos oxigenados (c). (Lago *et al.*, 2011; Santos; Braz-Filho; Castro, 2015). Fonte: Adaptado de Addams, (2017).

Algumas espécies filogeneticamente próximas a *E. uniflora*, como *Eugenia stipitata*, *Eugenia supraaxillaris* e *Eugenia pyriformis* (Mazine *et al.*, 2018) quando analisados seus óleos essenciais apresentam uma composição distinta. *E. stipitata* tem uma diversidade significativa de monoterpenos, ademais os sesquiterpenos apresentam maiores concentrações, com destaque para Guaiol,  $\beta$ -Cariofileno e  $\beta$ -Eudesmol que juntos compõem cerca de 30% do óleo essencial da espécie em extrações entre 3 e 4 horas.

Analisando a espécie *E. supraaxillaris*, 60% de seu óleo essencial é composto por monoterpenos com destaque para d-Limoneno,  $\alpha$ -Pineno e E-2-Hexenal em hidrodestilações de 3 horas, e avaliando a espécie *E. pyriformis* do ponto de vista do óleo essencial existe uma maior similaridade em sesquiterpenos com *E. uniflora* com destaque para  $\alpha$ -cadinol, Bicyclogermacreno e  $\beta$ -Cariofileno, no entanto, apresenta maior quantidade em monoterpenos em hidrodestilações por cerca de 5 horas. Dentre as espécies com maior similaridade

filogenética com a pitangueira, a composição química é relativamente distinta, sendo a pitangueira a única espécie com uma baixa quantidade de monoterpenos na constituição química do óleo essencial, esses dados apontam que apesar da similaridade morfológica que essas espécies apresentam, a alta diversidade química interespecífica se destaca dentro do gênero (Tabela 2).

**Tabela 2.** Componentes majoritários de espécies do gênero *Eugenia*, próximas filogeneticamente.

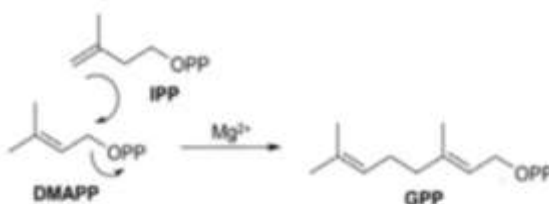
<b>Espécie de gênero <i>Eugenia</i></b>	<b>Substâncias majoritárias</b>
<i>E. uniflora</i> (a)	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (11,56 - 51%) Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxi (1,4 - 46,12%) Curzereno (5,9 - 53%) Gemacreno-B (0,39 – 7,5%) Espatulanol (0,38 - 7%)
<i>E. stipitata</i> (b)	Guaiol (13%) $\beta$ -Cariofileno (22%) $\beta$ -Eudesmol (8%) $\alpha$ -pineno (14%) Elemol (4%)
<i>E. supraaxillaris</i> (c)	d-Limoneno (18 – 32%) $\alpha$ -Pineno (24 – 28%) Germacreno-D (5 – 7%) $\alpha$ -Humuleno (4 – 9%) <i>E</i> -2-Hexenal (46%)
<i>E. pyriformis</i> (d)	$\alpha$ -cadinol (10 – 14%) Limoneno (0,5 – 14%) <i>B</i> -pineno (0,2 – 7%) Bicyclogermacreno (10 - 12%) $\beta$ -Cariofileno (7 – 17%)

Fonte: a – (Stefanello; Pascoal; Salvador, 2011; da Costa *et al.*, 2020; Cipriano; Maia; Deschamps, 2021), b – (Medeiros *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2020), c – (Aboutabl *et al.*, 2011; Abdelhameed *et al.*, 2023; Mohamed *et al.*, 2023), d – (Apel *et al.*, 2004).

Essa riqueza em compostos químicos garante a *E. uniflora* um grande potencial em diversos campos de aplicação. A alta concentração de proteínas, carboidratos e fibras podem ser exploradas para a produção de forragem animal e complemento para ração animal, seus metabólitos secundários taninos, fenóis e triterpenos podem ser explorados no tratamento de disenterias (Uchechukwu; Jamila Hussein; Asuquo, 2011). Além disso, sua variabilidade em sesquiterpenos abre possibilidade para o estudo em atividade biológica de interesse médico e agrícola (Rodrigues *et al.*, 2013; dos Santos *et al.*, 2018). As possibilidades são muitas se tratando dessa espécie nativa do bioma Mata Atlântica, desta forma, o aprofundamento no estudo da pitangueira tem importância para a conservação, possível desenvolvimento de fitoterápicos e em vários pontos do setor agrícola.

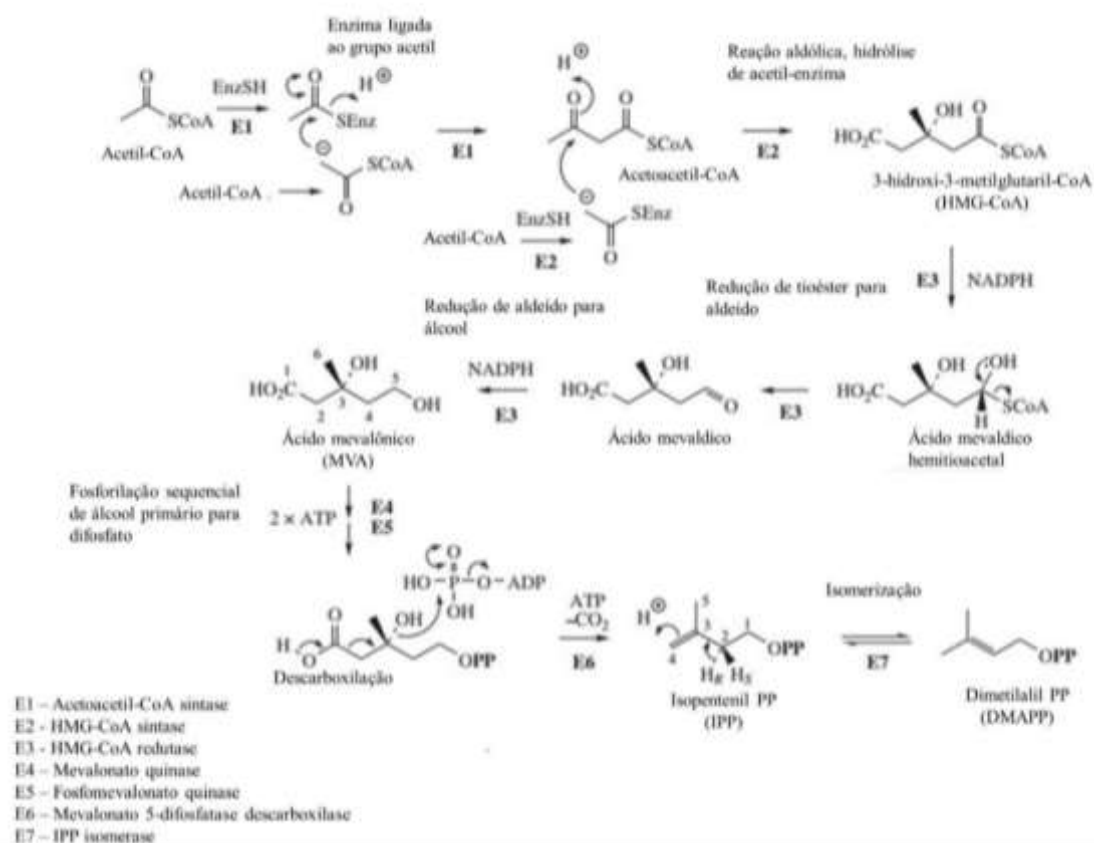
## 2.5 Biossíntese de terpenos

Para a síntese dos compostos terpenóides as plantas se utilizam de vias metabólicas especializadas, essas fazem parte do metabolismo especial dos vegetais. As vias metabólicas para essa construção se utilizam de moléculas de metabolismo primário, como a acetil-CoA, que por reações enzimáticas de redução sintetizam unidades de isoprenos (C5), essas unidades isoprenoides ativos são, Dimetilalil difosfato (DMAPP) e difosfato de isopentenil (IPP) (Szkopińska; Płochocka, 2005) (Figura 9). Para a síntese de monoterpenos (C10) duas unidades isoprenicas são unidas através da enzima geranyl pirofosfato sintase, e para a formação de sesquiterpenos que apresentam o esqueleto molecular formado por três isoprenos, a enzima que catalisa a reação é a farnesil pirofosfato sintase (Dewick, 2009).



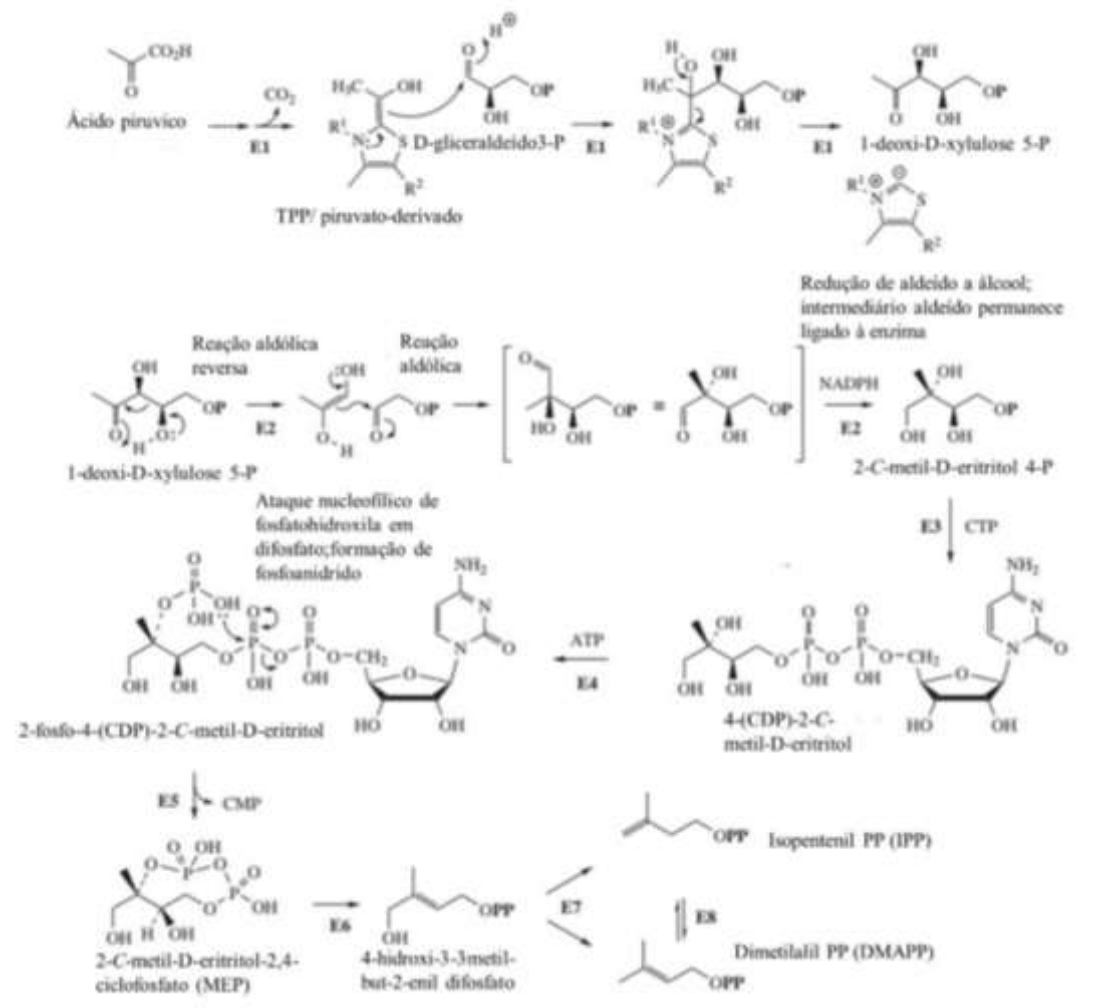
**Figura 9.** Síntese de geranilpirofosfato (GPP) com dois isômeros isoprenoides Dimetilalil difosfato (DMAPP) e difosfato de isopentenil (IPP). Fonte: Adaptado de Szkopinska & Plochocka (2005).

As duas principais vias metabólicas envolvidas na produção desses terpenóides são, a via citoplasmática do mevalonato (MEV) e a via plastidial do metileritritol-fosfato (MEP). A via MEV possui como molécula iniciadora o Acetil-CoA, por síntese enzimática ocorre a conversão em Acetoacetil-CoA que por reação aldólica com hidrólise no sítio acetil-enzima formando o intermediário 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), após algumas reações de redução é formado o mevalonato, esse precursor através de reações de fosforilação e descarboxilação forma como produto final da via, o IPP que pode se isomerizar em DMAPP (Dewick, 2009) (Figura 10).



**Figura 10.** Via metabólica do mevalonato (MEV) para a síntese de isoprenos. Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

A via MEP ocorre nos plastídeos e tem como molécula iniciadora o ácido pirúvico ou gliceraldeído-3-fosfato provenientes da glicólise, esses compostos de três carbonos passam por processos de redução, rearranjo e fosforilação formando metileritritol-fosfato (MEP). A via MEP em linhas gerais é a mais utilizada pelas plantas para a síntese de isoprenos, e não se restringe aos cloroplastos, ocorrendo também em cromoplastos e eleoplastos (Dewick, 2009).

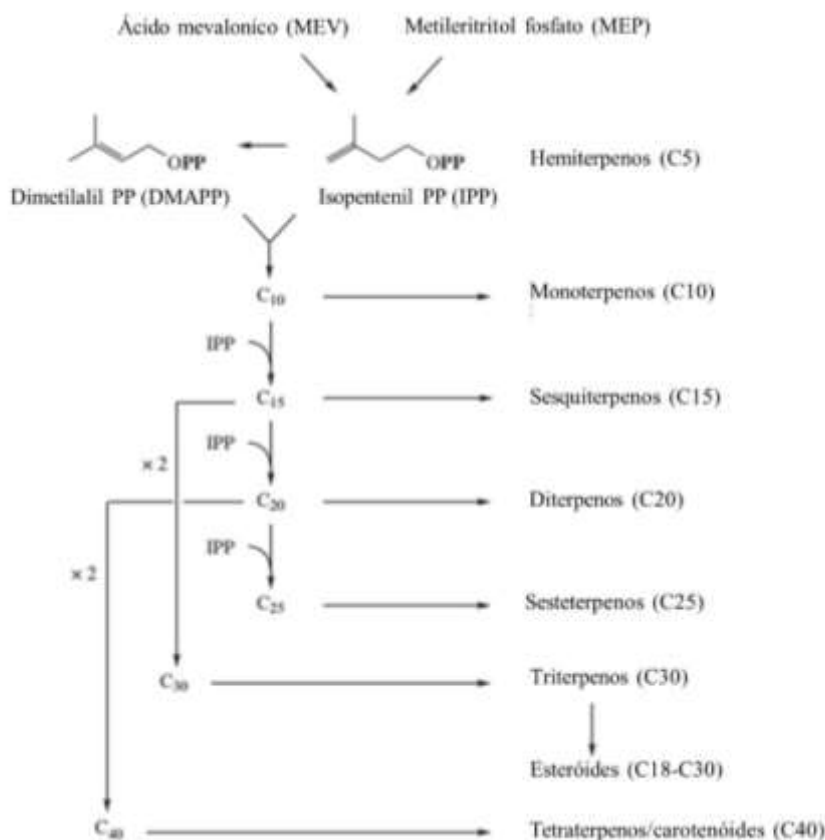


- E1 – DSX sintase
- E2 – 2-C-metil-D-eritritol 4-P sintase
- E3 – IspD sintase
- E4 – IspE quinase
- E5 – IspF sintase
- E6 – IspG sintase
- E7 – IspH redutase
- E8 – IPP isomerase

**Figura 11.** Via metabólica metileritritol fosfato (MEP) para a síntese de isoprenos. Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

A partir da síntese dos isoprenos, enzimas trabalham na construção dos terpenoides, em especial para a síntese de monoterpenos a enzima geranyl difosfato sintase trabalha promovendo ionização do DMAPP, perda de próton no IPP e fosforilação, essas reações promovem a produção de um difosfato de monoterpeno, geranyl-PP, ou seus isômeros linalil-PP e neril-PP, esses componentes por alterações simples podem formar vários monoterpenos (C10). Para a produção de sesquiterpenos a enzima farnesil difosfato sintase atua ligando mais uma isopreno em uma molécula monoterpenica. Os sesquiterpenos são geralmente sintetizados pela via MEV, onde ocorre a adição de um IPP (C5) a um GPP (C10) levando a síntese do precursor farnesil difosfato (FPP). A partir da formação do FPP, o mesmo pode dar origem a uma grande diversidade de sesquiterpenos lineares ou cíclicos, hidrocarbonetos ou oxigenados. Com as

consecutivas ações enzimáticas são produzidos os diterpenos, sesteterpenos, triterpenos, esteróides e carotenóides de acordo com a expressão gênica e condições ambientais bióticas e abióticas (Dewick, 2009) (Figura 12).



**Figura 12.** Panorama de biossíntese de terpenóides a partir da construção de isoprenos via MEV e MEP. Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

## 2.6 Uso medicinal tradicional

Se tratando de espécies botânicas nativas da Mata Atlântica, muitos são os conhecimentos de medicina tradicional, com pitangueira é não diferente. As propriedades medicinais associadas a *E. uniflora* são diversas, principalmente quando se trata da infusão de suas folhas. Através do método de infusão é preparado o chá que segundo o conhecimento tradicional possui propriedade hipotensora, antigota, contra náuseas e hipoglicemiante (Auricchio; Bacchi, 2003; Máthé; Bandoni, 2021). Além disso, a pitangueira apresenta moléculas com forte potencial medicinal, como compostos fenólicos com relatos de ações antioxidantes (Auricchio; Bacchi, 2003).

De acordo com o método de extração as propriedades podem se alterar e novos efeitos benéficos podem ser observados, como em extrato alcoólico das folhas que, segundo Carvalho (2006) garante efeitos contra diarreia, verminoses, bronquite, tosse, febre, ansiedade e hipertensão. Essa gama de propriedades medicinais associadas ao conhecimento popular é uma das principais formas de mapear novas plantas com potencial fitoterápico, compostos e princípios ativos em espécies pouco conhecidas no meio científico, essa grande área acadêmica que busca associar conhecimento tradicional, indígena e histórico com pesquisas científicas é chamada de etnobotânica (Bratti *et al.*, 2014). Através do estudo etnobotânico é evidenciado o

valor imaterial do conhecimento tradicional, abre possibilidades para estudos de perfil de diferentes comunidades e sua relação com a flora ao seu redor. Além disso, existe a busca por novos princípios ativos que associada aos conhecimentos empíricos passados por gerações, aumentam o potencial de sucesso no desenvolvimento de fármacos (Vásquez; de Mendonça; Noda, 2014). Para além dos conhecimentos tradicionais existe também o interesse público na pesquisa pelo potencial biotecnológico de plantas medicinais que ocorrem no Brasil, incluindo a pitangueira que está inserida na lista de plantas medicinais de interesse ao SUS (RENISUS).

A valorização e o potencial de desenvolvimento econômico para as comunidades é uma das possibilidades da etnobotânica. Todos esses fatores benéficos fazem da etnobotânica uma ciência crescente, em principal no Brasil onde os saberes tradicionais são diversos, e grande parte da flora nativa ainda é inexplorada pela ciência. “Nada é mais imaturo na ciência do que a crença que nada pode ser aprendido do passado” (Tyler, 1999).

## 2.7 Propriedades biológicas

Na Tabela 3 pode ser observada a atividade do óleo essencial de *E. uniflora* contra vários microrganismos. As atividades biológicas elucidadas na literatura sobre *E. uniflora* evidencia o grande potencial da planta na área medicinal, cosmética e agrícola. Além de tudo, os resultados da literatura corroboram os conhecimentos etnobotânicos acerca da espécie. Sobeh *et al.*, (2016), apontam atividade antibacteriana moderada contra bactérias de interesse médico, como, as gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *Bacillus subtilis* e as gram-negativas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* com óleo essencial de pitangueira rico em espatulenol (15%).

**Tabela 3.** Patógenos e as respectivas concentrações de óleo essencial de *E. uniflora* que exerceram atividade biológica.

Microorganismos	CIM
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> (a)	>10 mg/mL
<i>Bacillus licheniformis</i> (a)	=0,625 mg/mL
<i>Bacillus subtilis</i> (a)	=5 mg/mL
<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (b)	>10 mg/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	=1,25 mg/mL
<i>Candida albicans</i>	=2,5 mg/mL
	<b>CI50</b>
<i>Candida albicans</i>	=1.892 $\mu$ g/mL
<i>Candida tropicalis</i>	=4.511 $\mu$ g/mL
<i>Candida krusei</i>	=12.491 $\mu$ g/mL

a – Bactérias gram-positivas, b – bactérias gram-negativas. CIM: concentração inibitória mínima. CI50: concentração inibitória para 50 % da atividade. Fonte: adaptado de Sobeh *et al.*, 2016; dos Santos *et al.*, 2018.

Testes biológicos em fungos de interesse médico também destacam seu potencial fungicida moderado, como resultados com fungo do gênero *Candida* spp. (Sobeh *et al.*, 2016), outros resultados apontam efeito sinérgico positivo do óleo essencial associado ao fungicida sintético fluconazol contra fungos do mesmo gênero, sendo esse óleo essencial um possível potencializador do efeito fungicida e consequentemente diminuindo o efeito residual no corpo do paciente e no ambiente (dos Santos *et al.*, 2018).

Alguns outros compostos do metabolismo especializado de *E. uniflora* que não estão presentes no óleo essencial apresentam atividade antimicrobiana, como a molécula Oenoteína B, composto da classe dos taninos que pode ser extraído das folhas de pitangueira e possui efeitos contra *S. aureus*, *E. coli* e em fungos agentes etiológicos da micose (*Paracoccidioides* spp.) (Silva *et al.*, 2020). Extratos hidroalcóolicos das folhas de pitangueira constituídos majoritariamente por taninos e flavonóides podem apresentar atividades contra microorganismos, nos experimentos de Auricchio *et al.*, (2007) foi observado capacidade antibacteriana moderada em três espécies de bactérias patogênicas humanas, incluindo *Salmonella choleraesuis*.

Estudos fitossanitários são escassos com *E. uniflora*, no entanto, é possível que a espécie apresente um potencial a ser explorado. Mazaro *et al.*, (2008) fizeram testes do óleo essencial de pitangueira para a indução de fitoalexinas (antimicrobianos) em cotilédones de soja, os resultados são positivos, porém, moderados. São quase inexplorados os potenciais antifúngicos contra fungos de interesse agrícola com compostos provenientes de *E. uniflora*, é documentado um efeito inibitório do óleo essencial de pitangueira no crescimento do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* causador do mofo branco em feijão (Marques, 2014), neste estudo observou-se um notável efeito inibitório diretamente no fungo *in vitro*, bem como uma diminuição das necroses diretamente no vegetal, a aplicação óleo essencial também induziu a expressam de enzimas associadas a proteção da planta como quitinases, peroxidases e polifenoloxidasas. A falta de estudos com o uso de óleo *E. uniflora* contra fungos e bactérias de interesse agrônômico é uma realidade que dificulta a exploração do potencial biotecnológico da espécie nativa.

É válido destacar que a atividade biológica está diretamente relacionada a composição química das plantas trabalhadas nos experimentos, e estas, apesar de serem a mesma espécie podem apresentar algumas divergências genéticas que se mostram em fenótipos diferentes, principalmente se tratando de síntese de metabólitos secundários, formando quimiotipos diversos (Satyal *et al.*, 2017). Ademais, existe uma gama fatores edafoclimáticos que contribuem para uma diversidade química em espécies botânicas, aspectos como, tipo de solo, luminosidade, herbivoria e competição são razões para diferentes respostas químicas dos vegetais (da Costa *et al.*, 2020).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

O presente trabalho buscou investigar a diversidade química da população de pitangueiras (*E. uniflora*) do litoral Norte Fluminense-RJ, com base nos óleos essenciais extraídos das folhas, visando espécimes com potencial agrônômico. Também foi interesse deste estudo avaliar possíveis aplicações biotecnológicas dos óleos essenciais de pitangueiras para o controle de fungos de interesse agrícola como *Colletotrichum gloeoporioides* e *Pestalotia* sp.

#### 3.2 Objetivos específicos

1) Cadastrar o projeto de pesquisa e informar os órgãos de meio ambiente, como INEA-RJ, ICMBIO e SISGEN sobre a prospecção e coleta de pitangueira (neste caso, parte dos trabalhos já foi iniciado, cabendo somente a atualização dos acessos no SisGEN e se necessário prorrogação das autorizações concedidas pelo INEA e ICMBio);

2) Prospectar genótipos de pitangueira em fragmentos da mata atlântica, na Região do Litoral Norte Fluminense, RJ.

3) Realizar a cinética de extração do óleo essencial de *E. uniflora* para se conhecer um tempo ótimo de extração.

4) Extrair e caracterizar o óleo essencial dos diferentes genótipos pitangueira, em conformidade com as regras e recomendações de órgãos de normatização como a ISO 9235 (2013), IOFI e literatura específica.

5) Propor a sistematização dos dados de diversidade química da pitangueira através de análises univariadas e multivariadas.

6) Prospectar entre os óleos essenciais dos diferentes genótipos de pitangueira a atividade tóxica *in vitro* sobre fungos de interesse agrícola, analisando a porcentagem de inibição do crescimento micelial.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Cinética de destilação dos óleos essenciais de *E. uniflora***

#### **4.1.1 Destilação**

O material vegetal foi coletado de um espécime de *E. uniflora* localizado no campus da UFRRJ – Seropédica, RJ (-22,7608817, -43,6917928). As folhas foram secas em estufa a 37° C por 72 horas, em seguida, trituradas em liquidificador por 2 minutos. O processo de hidrodestilação foi realizado no setor de grandes culturas da UFRRJ, Seropédica, RJ. A quantidade de 100 g das folhas secas de *E. uniflora* (n=4) foram submetidas a hidrodestilação em balão volumétrico de fundo redondo de 5 litros contendo 3 L de água destilada e conectado em um aparelho tipo *Clevenger*. A fonte de calor consistiu em uma manta de aquecimento (700 W) e o fluxo de destilado foi delimitado para 3 mL/min, com o auxílio do potenciômetro da manta de aquecimento. Após iniciado a operação, nos intervalos de 0 a 30, 30 a 60, 60 a 120, 120 a 240 e 240 a 360 minutos o óleo essencial foi recolhido. A vidraria foi lavada com 2mL de diclorometano para a recuperação total do óleo essencial, posteriormente, a mistura foi filtrada, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente eliminado com fluxo N<sub>2</sub> gasoso, até atingir a estabilidade de massa (Figura 13).



**Figura 13.** Processo de extração do óleo essencial de *E. uniflora* através do método físico de hidrodestilação. Extração em aparelho tipo Clevenger modificado (A); Secagem do óleo essencial através de filtração com sulfato de sódio anidro (B); Retirada do solvente diclorometano com gás nitrogênio (C); Óleo essencial durante a extração na vidraria (D). Fonte: Acervo pessoal (2022).

#### 4.1.2 Teor (% , *m/m*)

A massa foi expressa em porcentagem (% , *m/m*) de óleo essencial com base na matéria seca de folhas. No momento da destilação das folhas de *E. Uniflora*, uma amostra foi separada para avaliar a matéria seca, ou seja, a massa de folhas livre de umidade. O procedimento foi realizado da seguinte forma: uma amostra de 2g foi seca em uma estufa a 102°C até alcançar a estabilidade, que ocorreu em aproximadamente 48h. Com auxílio de uma balança analítica (modelo Unibloc AUW-320 Shimadzu) com precisão de 0,1 mg (0,0001g), foi obtido a massa da amostra antes (2 g) e depois.

A matéria seca em termos percentuais foi calculada utilizando a equação (1), onde:  $MS\%$  = teor (%) de matéria seca;  $m_{as}$  = massa da amostra seca (g);  $m_{au}$  = massa da amostra com umidade (g), material usado na extração do óleo essencial.

$$(1) \quad MS\% = (m_{as}) * 100 / (m_{au})$$

Para o cálculo da matéria seca da amostra ( $MS_a$ ) utilizada no processo de extração utilizou-se a equação (2), onde:  $MS_a$  = matéria seca da amostra (g) que foi utilizado na destilação;  $m_{au}$  = massa da amostra com umidade (g).

$$(2) \quad MS_a = (m_{au} * MS\%) / 100$$

E para a obtenção do teor de óleo essencial com base na matéria seca ( $OE\%_{MS}$ ), foi usada a equação (3), onde  $m_{oe}$  = massa de óleo essencial (g).

$$(3) \quad OE_{\%MS} = m_{oe} * 100 / MS_a$$

### 4.1.3 Análise e caracterização química por CG-DIC e CG-EM

Para a análise das amostras de óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama (CG-DIC) foi utilizado o Cromatógrafo gasoso *HP 5890 series II* (Hewlett-Packard, USA), equipado com detector de ionização de chama com injetor no modo “split 1:100” a 250°C, que separa os componentes e tem grande eficiência na quantificação dos constituintes do óleo essencial. A coluna utilizada foi do tipo HP - 5 (30m X 0.25mm X 0.25 µm) (Varian) de sílica com fase estacionária 5% fenil-metilpolisiloxano. O gás de arraste foi hélio, com fluxo de 1mL/min. A programação da temperatura da coluna 50° C por 5 min, com acréscimo de 3 °C min<sup>-1</sup> até 120 °C, seguido de acréscimo de 5 °C min<sup>-1</sup> até 250 °C, e por fim um acréscimo de 15 °C min<sup>-1</sup> até 290 °C, mantidos por 20 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram 250 °C e 290 °C, respectivamente.

Para a análise das amostras de óleo essencial por CG-EM foi utilizado um Cromatógrafo Gasoso acoplado ao espectrômetro de massa do modelo QP-2010 Plus (Shimadzu, JPN), o equipamento separa os componentes e tem eficiência em qualificar as substâncias presentes no óleo essencial. As temperaturas de injetor e interface foram de 220 °C e 250 °C, respectivamente. A coluna e a programação do equipamento foram as mesmas utilizadas no CG-DIC. A temperatura do injetor e do detector foram de 250 °C e 310 °C, respectivamente, com o volume injetado de 0,5 µL e padrão interno octanoato de metila.

A identificação e elucidação dos constituintes do óleo essencial foi realizada com base na comparação dos espectros de massa das substâncias com os espectros dos bancos de dados do equipamento (Nist, 2008) e da literatura (Adams, 2017) e ainda com o auxílio dos índices de retenção linear (Van Den Dool; Dec. Kratz, 1963), os componentes devidamente identificados foram tabelados no software Microsoft Office Excel 2021.

## 4.2 Diversidade *in situ* do óleo essencial *Eugenia uniflora*

### 4.2.1 Regularização e desenvolvimento de pesquisa

O grupo possui prévia autorização para as atividades de campo e coleta cadastrada nos órgãos competentes, Instituto Estadual do Meio Ambiente do Estado do Rio de Janeiro – INEA Nº 023/2021, e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio Nº 75906-1. As coletas foram devidamente cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), código de cadastro AAA4A76.

### 4.2.2 Prospecção, identificação e coleta

Foram realizadas duas coletas percorrendo o litoral Norte Fluminense, RJ. A primeira coleta foi realizada no dia 23 de setembro de 2022 nos municípios de Rio das Ostras, Macaé e Campos dos Goytacazes, RJ, um total de 10 espécimes foram coletadas em ambiente natural (*in situ*). A segunda coleta foi feita no dia 18 de novembro de 2022 nos municípios de Campos dos Goytacazes, São João da Barra e São Francisco de Itabapoana, RJ, mais 10 indivíduos foram coletados, totalizando 20 espécimes. Foram coletados de cada indivíduo cerca de 1kg de matéria vegetal, alguns ramos para produzir exsiccatas além de frutos para promover a germinação posterior *ex situ*. Para a identificação dos acessos utilizou-se a sigla EU (*Eugenia uniflora*) e os

locais de coleta foram identificados através de latitude, longitude via GPS e descrição resumida do ambiente (Figura 14).



**Figura 14.** Mapa do Estado do Rio de Janeiro com demarcações de seus ecossistemas e pontos vermelhos marcando os locais de coleta de *E. uniflora* no litoral norte do Estado georreferenciados. Fonte: Adaptado de INEA (2023).

#### 4.2.3 Produção de exsicatas e tombamento

O material vegetal e os ramos das exsicatas foram secados em estufa por 48h à 39°C e levados ao herbário da UFRRJ para o registro e tombamento. O processo ocorreu em duas etapas: (1) preenchimento da planilha eletrônica disponibilizada pelo site do próprio herbário, RBR-UFRRJ, para identificação dos diferentes indivíduos, com a validação da planilha de dados foram geradas etiquetas de identificação com as informações fornecidas pelo depositante para cada amostra com o número de tombamento (Tabela 4). (2) Confecção das exsicatas, que consistiu na montagem das exsicatas seguindo as instruções e recomendações do instrutor do Herbário (Figura 15). Os frutos foram despulpados e submetidos a semeadura.

**Tabela 4.** Informações das exsicatas depositadas no herbário da UFRRJ.

<b>Espécimes</b>	<b>Nº de registro</b>	<b>Município</b>	<b>Localização (lat e long)</b>	<b>Horário de coleta</b>
EU 23	RBR 57578	Rio das Ostras, RJ	-22.5271217 -41.93252955	10:12
EU 24	RBR 57579	Rio das Ostras, RJ	-22.53413454 -41.93181004	10:36
EU 25	RBR 57580	Rio das Ostras, RJ	-22.50847408 -41.91467978	11:14
EU 26	RBR 57581	Rio das Ostras, RJ	-22.49152306 -41.89756963	11:48
EU 27	RBR 57582	Macaé, RJ	-22.41750175 -41.82004239	12:41
EU 28	RBR 57583	Macaé, RJ	-22.29790157 -41.68668	14:36
EU 29	RBR 57584	Macaé, RJ	-22.29124781 -41.70830492	15:19
EU 30	RBR 57585	Campos dos Goytacazes, RJ	-22.02712343 -41.0234518	08:10
EU 31	RBR 57586	Campos dos Goytacazes, RJ	-22.00642833 -40.99534828	08:50
EU 32	RBR 57587	Campos dos Goytacazes, RJ	-22.00045463 -40.98897267	09:19
EU 33	RBR57963	Campos dos Goytacazes, RJ	-21.98915529 -40.98329779	10:46
EU 34	RBR 57964	São João da Barra, RJ	-21.92868186 -41.00387033	12:28
EU 35	RBR 57965	São João da Barra, RJ	-21.91502002 -40.98506972	13:07
EU 36	RBR 57966	São João da Barra, RJ	-21.7362036 -41.02634925	14:29
EU 37	RBR 57967	São João da Barra, RJ	-21.66982592 -41.07121289	15:35
EU 38	RBR 57968	São Francisco de Itabapoana, RJ	-21.58256555 -41.10120267	17:00
EU 39	RBR 57969	São Francisco de Itabapoana, RJ	-21.56732203 -41.06205147	17:40
EU 40	RBR 57970	São Francisco de Itabapoana, RJ	-21.39023218 -40.9836505	8:35
EU 41	RBR 57971	São Francisco de Itabapoana, RJ	-21.31487962 -40.96465845	8:59
EU 42	RBR 57972	São Francisco de Itabapoana, RJ	-21.32444854 -40.96508827	09:32



**Figura 15.** Exsicata de *E. uniflora* montada. Fonte: Acervo pessoal (2022).

#### **4.2.4 Destilação, rendimento (m/m%) e análise química**

O procedimento adotado para destilação, cálculo do teor e análise química dos óleos essenciais foram as mesmas descritas nos itens 4.1.1, 4.1.2 e 4.1.3, com algumas modificações que serão apresentadas a seguir. Para a hidrodestilação foi utilizado 150 g de folhas secas de *E. uniflora*, uma extração por amostra e o tempo de destilação foi fixado em 3 horas.

#### **4.2.5 Caracterização dos quimiotipos**

Para a definição dos quimiotipos no estudo de diversidade química de pitangueira foi utilizado uma metodologia proposta por (Nascimento, *et al.*, 2020), visto que não existe uma norma na literatura para definir nome aos quimiotipos. A metodologia apresenta comparações entre o quantitativo de cada substância dentro do óleo essencial e a dominância entre elas, o quimiotipo pode ser de apenas uma substância majoritária (A), duas substâncias (A-B) ou três (A-B-C). Os parâmetros para se observar as substâncias majoritárias dominantes nos óleos essenciais estão detalhados na seguinte chave:

- a) Quimiotipo A: se  $A \geq 2B$  e  $A \geq 25\%$ ;
- b) Quimiotipo A-B: se  $B \geq 15\%$  e  $B \geq 2C$ ;
- c) Quimiotipo A-B-C se  $C \geq 10\%$  e  $C \geq 2D$ ;
- d) Quimiotipo indefinido ou misto, se nenhuma das opções anteriores foi atendida.

#### **4.2.6 Análise visual de arranjos químicos (chemoarrays)**

Buscando elucidar os padrões de concentração dos compostos majoritários dos óleos essenciais de *E. uniflora*, foram produzidos gráficos de rosca com os componentes mais expressivos destacados por cores. Com os gráficos coloridos, realizou-se uma análise visual de

arranjos químicos (chemoarrays), agrupando os óleos essenciais com padrões semelhantes. Para a seleção dos compostos foi utilizada uma restrição na base de dados, que estão detalhados abaixo:

- a) Concentração de mais de 15% em pelo menos um óleo;
- b) e/ou 70% de frequência nos óleos essenciais.

Com base nas restrições estabelecidas, 11 substâncias majoritárias foram selecionadas e para cada uma foi atribuída uma cor. As demais substâncias formaram um grupo denominado como “outros”.

### **4.3 Teste de atividade antifúngica**

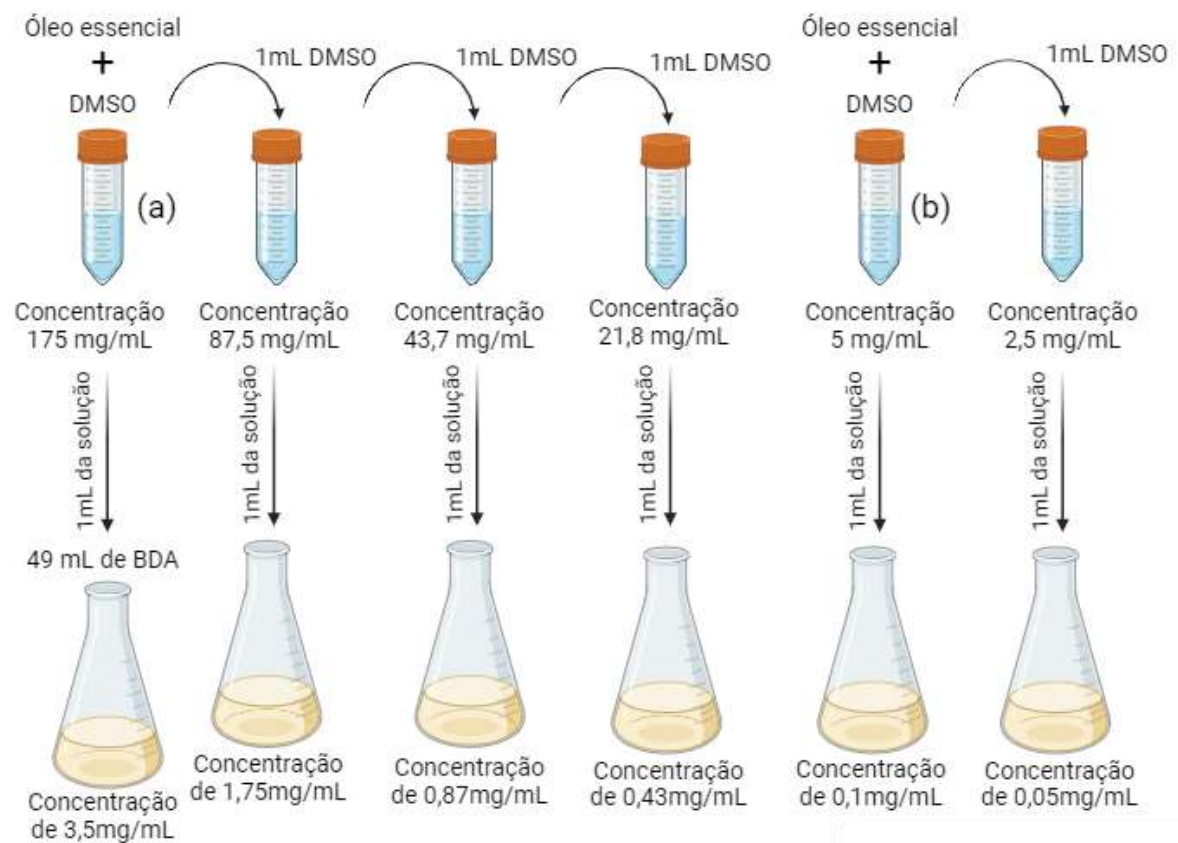
#### **4.3.1 Material**

Amostras nomeadas como EU24, EU25, EU28, EU31 e EU42 de óleo essencial de diferentes espécimes de *E. uniflora* foram testados nos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* e *Pestalotia* sp. causadores da antracnose e patógenos de sementes de espécies florestais, respectivamente. O fungo *C. gloeosporioides* foi isolado da fruta do mamão (*Carica papaya* L.) no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais–LabPAM, a identificação do fungo foi feita com a técnica de microscopia através de comparação de estruturas fúngicas, como, micélios, conídios, conidióforos e apressórios. O fungo *Pestalotia* sp. foi cedido pelo Laboratório de micologia e micotoxidade da UFRRJ, ambos foram propagados em meio BDA (Batata, Dextrose e Agar), tendo suas colônias sido incubadas em câmara com temperatura controlada (27°C).

#### **4.3.2 Preparo de solução teste**

As soluções em diferentes concentrações foram preparadas conforme a seguinte descrição. Uma solução padrão foi preparada utilizando-se 350 mg de óleo essencial pesados em balança analítica (modelo Unibloccom AUW-320 Shimadzu) com precisão de 0,1 mg (0,0001g), o óleo foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) até atingir 2 mL de volume resultando em uma solução de trabalho a 175mg/mL. A partir disso, foi-se diluindo 1mL da solução de trabalho em 49mL de BDA produzindo um meio de cultura com uma concentração de óleo essencial de 3,5mg/mL, as outras concentrações foram produzidas de forma seriada a partir da solução trabalho adicionando-se 1 mL de DMSO para a preparação de soluções com concentrações fracionadas, formando meios BDA nas concentrações finais de 1,75mg/mL, 0,875mg/mL, 0,437mg/mL (Figura 16).

Para o preparo das concentrações mais baixas foi pesado 10 mg de óleo essencial na balança analítica, e diluído em DMSO até ao volume de 2 mL formando uma solução trabalho com concentração de 5mg/mL, desta segunda solução trabalho foi utilizado 1mL para diluir em 49mL de BDA resultando em um meio de cultura com concentração de óleo essencial de 0,1mg/mL, logo após mais 1mL de DMSO foi aplicado na solução trabalho decaindo a concentração pela metade e a diluição em meio de cultura foi repetida formando a menor concentração de 0,05mg/mL (Figura 16). Os outros tratamentos foram a testemunha contendo apenas o meio de cultura BDA, o controle (+) contendo BDA e o fungicida sistêmico FOLICUR® em uma concentração de 0,25mg/mL, e o controle negativo contendo 49mL de BDA e 1mL do composto detergente DMSO.



**Figura 16.** Esquema da preparação das soluções de BDA com diferentes concentrações de óleo essencial. Para a preparação das concentrações maiores, foram adicionados nos meios BDA 1mL da solução de trabalho (a), após cada produção adicionou-se mais 1mL de DMSO na solução de trabalho, diminuindo a concentração da mesma. Para as concentrações menores foi preparada uma solução de trabalho menos concentrada (b). Fonte: Acervo pessoal.

Foram feitos seis experimentos com os seguintes óleos essenciais: EU31, EU42, EU25 foram testados em *Colletotrichum gloeosporioides*, e EU31, EU24 e EU28 foram testados em *Pestalotia* sp. Para cada experimento todos os tratamentos foram produzidos em cinco repetições. Todo o processo de manipulação dos tratamentos e produção das concentrações foi feito dentro de fluxo laminar (Figura 17).



**Figura 17.** Processo de preparo de soluções e repicagem dos fungos em câmara de fluxo laminar. Fonte: acervo pessoal (2023).

Para a análise dos resultados dos testes biológicos a área de crescimento do micélio fúngico foi mensurado utilizando o software Image J, os valores foram convertidos para porcentagem de inibição com o auxílio do programa Excel®. O processamento dos dados, construção dos gráficos e análise estatística foram feitos no software GraphPad Prism 8. As análises estatísticas feitas foram por análises de correlação não linear com cálculo de CI50 (concentração inibitório de 50% do micélio) e teste de médias (Tukey), para cada experimento a análise de correlação apresentou uma equação da curva de dispersão de inibição nos tratamentos e através dessas equações foi possível estimar a concentração inibitória de 50% (CI50). Também foram construídos gráficos de barras juntamente com teste Tukey usando os valores exatos da área de crescimento micelial de todos os experimentos.

#### **4.4 Estatística**

##### **4.4.1 Análises descritivas**

Para o estudo de cinética de extração do óleo essencial de pitangueira foi proposto primeiramente a descrição dos dados de massa de óleo essencial, com base nos intervalos de destilação, na forma de gráfico de dispersão, onde os símbolos representaram as médias dos dados e as barras indicam o desvio padrão. Em seguida, os dados de massa de óleo essencial foram transformados em teor (%) de óleo essencial, com base na matéria seca acumulada em cada intervalo de destilação, depois foram submetidos a regressão não linear e apresentados em um gráfico de dispersão onde os símbolos representaram as médias dos dados e as barras indicam o desvio padrão apresentando a dispersão dos dados amostrais, a análise de regressão utilizada foi de Michaelis-Menten que compara substrato vs velocidade para determinar o  $K_m$  e  $V_{max}$ . As análises e os pressupostos estatísticos, assim como os gráficos foram executados com o auxílio do programa GraphPad Prism 8.

Para o estudo de diversidade *in situ* as análises descritivas foram apresentadas com base em gráficos do tipo Box-Plot e de colunas, elucidando a variabilidade de teores dos óleos. Na análise de parâmetros geográficos foram feitos gráficos de barras juntamente com teste de

médias (Tukey), destacando a diferença nos teores de óleos essenciais em cada região (cidade) de coleta. Além disso, o teor também foi analisado pelo parâmetro de cor dos óleos essenciais através de gráficos de barras e teste Tukey.

#### 4.4.2 Matriz de dados

A matriz de dados referente as amostras de óleos essenciais e utilizada para as análises estatísticas foi construída da seguinte forma. As linhas foram constituídas pelas 20 amostras de óleos essenciais de códigos EU 23 à EU42, sendo estas as variáveis independentes. As colunas foram constituídas por 23 substâncias químicas identificadas nos óleos essenciais, e selecionadas após restrições, sendo estas as variáveis dependentes. As variáveis dependentes foram selecionadas após imposição de restrições ao total de 51 substâncias que constituíram os óleos essenciais das 20 amostras. A restrição imposta foi a seguinte: A substância deve apresentar proporção (área relativa) igual ou maior que 5% em pelo menos um dos 20 óleos essenciais e/ou frequência igual ou superior a 40% nos óleos essenciais amostrados.

#### 4.4.3 Análise de agrupamentos hierárquicos

O método de análise multivariada estabelecido foi o método de agrupamento hierárquico UPGMA (*Unweighted pair Group Method with Arithmetic mean*). Para a análise utilizou-se uma matriz com 20 espécimes resultantes da prospecção (variáveis independentes) e 23 substâncias majoritárias (variáveis dependentes) que foram delimitadas utilizando a restrição explanada acima, a base de dados foi submetida a padronização, deixando todas as variáveis adimensionais com o objetivo de evitar enviesamentos dos dados. Foi calculada a matriz de distância euclidiana, importante para a análise de agrupamentos, e essa matriz de dados foi submetida ao método UPGMA que constrói um dendrograma que demonstra de forma gráfica os indivíduos semelhantes e divergentes. Com a finalidade de averiguar o ajuste e veracidade da matriz fenética (matriz euclidiana) e da matriz cofenética (dendrograma) foi realizado o cálculo do coeficiente de correlação cofenética calculado com a equação abaixo.

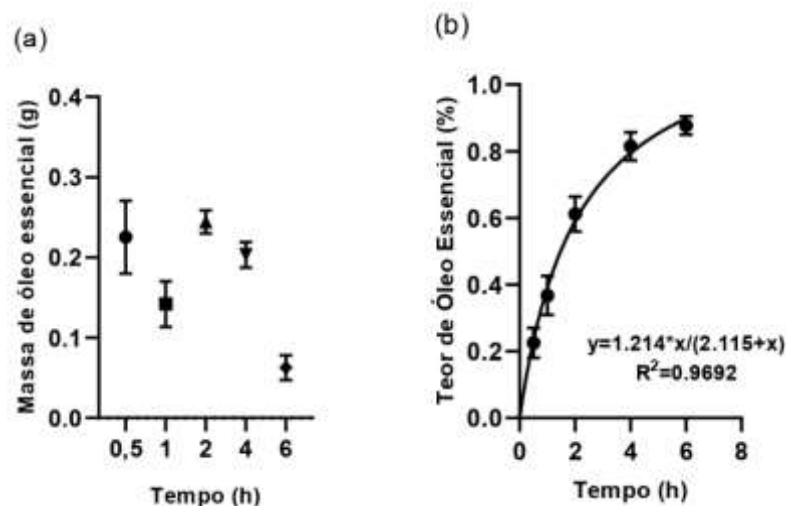
$$ccc = \frac{\widehat{Cov}(F, C)}{\sqrt{\widehat{V}(F) \cdot \widehat{V}(C)}}$$

As análises estatísticas de agrupamento hierárquico descritas acima foram realizadas no Programa R, versão 4.3.1, Copyright © 2023, The R Foundation for Statistical Computing. Todas as análises descritivas, gráficos Boxplot, gráficos de barra e teste de médias foram realizadas no software GraphPad Prism 8.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Cinética de extração do óleo essencial de pitangueira

Com a finalidade de se conhecer o melhor tempo de hidrodestilação para a obtenção do óleo essencial de *E. uniflora*, foi proposto um experimento de cinética de extração. Deste modo, as folhas de um espécime de pitangueira, localizado no campus da UFRRJ em Seropédica-RJ, foram coletadas, secas e submetidas a hidrodestilação, com amostragem de óleo essencial aos 30 minutos, 1, 2, 4 e 6 horas (tempo de esgotamento) após iniciada a destilação. Os resultados da cinética de extração estão representados na Figura 18 e Tabela 5.



**Figura 18.** Hidrodestilação de folhas secas de pitangueira. Massa (g) de óleo essencial obtido nos diferentes intervalos de destilação (a). Cinética de destilação com base no teor (% *m/m*) de óleo essencial acumulado nos diferentes intervalos de tempo (b). Os símbolos representam as médias das amostras e as barras indicam o desvio padrão dos dados. O gráfico b apresenta a equação da curva produzida através da regressão e o  $R^2$ .

Os resultados de rendimento acumulado após 6 horas de extração foram de 0,87% (*m/m*). Com a análise de regressão foi possível estimar a porcentagem máxima de extração (teor máximo estimado = 1,214%), a curva de dispersão dos dados em função do tempo de destilação e teor (%) de óleo essencial apresentou um comportamento hiperbólico com  $R^2$  igual a 0,9692 (Figura 18). Logo, foi possível estimar o percentual de OE a ser extraído em 3 horas, que foi de 0,71%. Com o tempo de 2 e 4 horas foi possível extrair o equivalente a 0,61%  $\pm$  0,12 e 0,81%  $\pm$  0,10 de óleo essencial. As estimativas previstas com base na análise de regressão foram de 0,59 e 0,79% para os tempos de 2 e 4 h respectivamente. (Tabela 5).

**Tabela 5.** Cinética de extração de óleo essencial de *E. uniflora* por hidrodestilação, a partir das folhas de pitangueiras.

Tempo (h)	Teor de óleo essencial (% <i>m/m</i> )	
	Estimado	Experimental ( $\pm$ dp)
0,5	0,23	0,22 $\pm$ 0,09
1,0	0,39	0,39 $\pm$ 0,14
2,0	0,59	0,61 $\pm$ 0,12
3,0	0,71	
4,0	0,79	0,81 $\pm$ 0,10
6,0	0,89	0,87 $\pm$ 0,06

dp: desvio padrão.

Considerando que o modelo prevê o equivalente a 1,214 (% *m/m*), o teor máximo de óleo essencial extraído das folhas de pitangueira, no tempo de 2h, 3h e 4h seriam obtidos 59, 71 e 79% do total estimado (100%), respectivamente. Através da análise da Tabela 5, é possível

prever que o ganho adicional de massa de óleo essencial em função do tempo de destilação na 5ª e 6ª hora torna-se pouco, em comparação com as primeiras horas.

O resultado obtido através da cinética de extração do óleo essencial de *E. uniflora* demonstrou que o tempo ideal para a extração deste óleo é entre 2h e 3h, visto que, o ganho adicional de massa de óleo essencial em função dos custos operacionais, que envolvem energia, mão de obra e tempo de uso do equipamento são dispensáveis, tornando esse intervalo de tempo o mais adequado para a extração do óleo essencial de pitangueira (Figura 19 – b). Através da análise do gráfico da figura 19 – a onde existe uma comparação da massa de óleo recolhida nos diferentes tempos, fica evidente que a partir de 4h de extração a quantidade de óleo essencial extraído é muito baixa, indicando o esgotamento dos compostos no tecido vegetal (Nascimento *et al.*, 2020), corroborando os resultados de rendimento e evidenciando o tempo ótimo de extração entre 2h e 3h.

O tempo em torno de 2 horas para a extração de óleos essenciais em plantas aromáticas é um período padronizado para diversos cultivares que tem como um dos produtos principais o óleo essencial, como em alecrim *Rosmarinus officinales* (Chen *et al.*, 2021), erva baleeira *Varronia curassavica* e louro *Laurus nobilis* (Nascimento *et al.*, 2020). Outras plantas aromáticas apresentam um tempo ideal de 3 horas de hidrodestilação como a palmarosa *Cymbopogon martinii* (Rajeswara Rao; Rajput; Patel, 2009), e alguns outros vegetais que possuem altos teores de monoterpenos esse período de extração se torna menor, ficando em cerca de 1 hora, como em erva cidreira *Lippia alba* (Glamočlija *et al.*, 2011).

O período de extração de óleo essencial é extremamente importante para a indústria, estando diretamente relacionado ao custo de produção e valor do produto final, neste sentido, o conhecimento de cinética de extração de óleos essenciais é necessária para o gerenciamento do consumo de energia e mão de obra técnica, visando uma conciliação nos aspectos qualitativos e econômicos do produto final.

Na identificação dos compostos foram elucidados uma média de 74% dos componentes químicos do óleo essencial, a análise química apontou um alto teor de sesquiterpenos, compondo quase a totalidade do óleo essencial de *E. uniflora* (97%), sesquiterpenos oxigenados se destacaram em maior ocorrência (57%). Os componentes majoritários foram em média Curzereno (37%),  $\beta$ -elemeno (8%) e Germacreno B (5%) (Tabela 6). O único monoteperno encontrado no OE de pitanga foi o (Z)- $\beta$ -Ocimeno (1,9%), extraído nos primeiros 30 minutos. A análise de sesquiterpenos apontou que nas amostragens de 2h os componentes principais curzereno,  $\beta$ -elemeno e Germacreno B foram extraídos em percentuais altos (41%, 7,9% e 7,4%, respectivamente), e avaliando as extrações mais longas de 6h observou-se uma baixa no percentual desses componentes, sendo, curzereno com 22%,  $\beta$ -elemeno com 7,3% e Germacreno B com 0,68%, como é possível observar na tabela 6.

Com a caracterização da composição química das amostras de óleos nos seus respectivos tempos, observou-se diferenças mínimas nos constituintes do óleo, sendo identificados monoterpenos apenas no período de 30 minutos. A obtenção de diferentes frações de óleos essenciais é comum para algumas espécies onde o óleo tem maior composição de monoterpenos, como em diferentes espécies de zimbro (*Juniperus virginiana*, *J. excelsa* e *J. sabina*) (Semerdjieva *et al.*, 2019). Em *E. uniflora* devido a seu baixo teor em monoterpenos encontrados no presente trabalho e fundamentado na literatura com porcentagens que variam entre 0,5% e 8,6% (Stefanello; Pascoal; Salvador, 2011; da Costa *et al.*, 2020), é possível inferir que a presença abundante de sesquiterpenos faça com que não ocorra grandes variações na composição química deste óleo em amostras coletadas nos diferentes intervalos de tempo.

**Tabela 6.** Composição química de amostras de do óleo essencial de *E. uniflora* isolados em diferentes intervalos de tempo.

Diferentes intervalos de tempo:									
TR	Substâncias identificadas	Cl	IRLc	IRLt	Intervalo de tempo (h)				
					0,5	1	2	4	6
----- Area relativa (%) -----									
13,65	Ocimeno <(Z)- $\beta$ ->	MH	1049	1032	1,9	-	-	-	-
29,49	Elemeno < $\delta$ ->	SH	1335	1335	3,9	1,1	1,1	1,5	2,0
30,56	Elemeno < $\beta$ ->	SH	1391	1389	8,1	7,9	7,9	7,8	7,3
30,99	Cariofileno <(E)->	SH	1420	1417	4,1	3,9	4,4	5,4	6,2
32,70	Elemeno < $\gamma$ ->	SH	1433	1434	2,9	1,4	1,6	1,9	2,1
33,04	Germacreno D	SH	1484	1480	4,2	4,0	3,7	2,7	1,1
33,19	Viridifloreno	SH	1494	1496	-	-	-	-	3,4
33,25	Bicyclogermacreno	SH	1499	1500	0,6	1,1	1,5	2,3	-
33,54	Curzereno	SO	1499	1499	41,1	46,5	42,9	33,3	22,5
33,88	Germacreno A	SH	1500	1508	0,5	2,6	0,4	0,9	-
35,05	Cadineno < $\delta$ ->	SH	1523	1522	-	-	-	7,5	1,8
35,67	Germacreno B	SH	1565	1559	6,6	3,3	7,4	0,8	0,7
35,89	Espatulenol	SO	1565	1577	1,6	3,2	1,3	1,3	2,3
36,12	Globulol	SO	1587	1590	0,3	1,1	1,2	1,6	5,4
37,04	Ledol	SO	1590	1602	0,9	0,7	1,0	1,5	1,2
37,80	Cadinol < $\alpha$ ->	SO	1667	1652	-	1,2	3,2	3,7	1,9
38,65	Isobornil isobutanoato < $\delta$ -hydroxy->	SO	1641	1674	0,5	0,9	0,5	0,6	3,5
42,4	Furanodieno *	SO	1672	1666	0,4	0,7	0,3	0,4	3,1
	Acetato de khusinolina	SO	1707	1823	0,5	1,3	1,7	3,2	4,5
	Hidrocarbonetos de monoterpenos				1,9	-	-	-	-
	Monoterpenos oxigenados				-	-	-	-	-
	Monoterpenos totais				1,9	-	-	-	-
	Hidrocarbonetos de sesquiterpenos				30,9	25,3	28,0	30,7	24,5
	Sesquiterpenos oxigenados				45,2	55,7	52,1	45,4	44,2
	Sesquiterpenos totais				76,2	81,0	80,2	76,1	68,8
	Não identificados (NI)				21,9	19,0	19,9	23,6	28,8

CL: Classe química; TR: Tempo de retenção; IRLc: Índice de retenção linear calculado; IRLt: Índice de retenção linear tabelado; MH: Monoterpeno hidrocarboneto; SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto; SO: Sesquiterpeno oxigenado.

Para além dos componentes majoritários, os resultados demonstram o esgotamento dos diversos sesquiterpenos menos expressivos de acordo com o tempo de hidrodestilação, como,  $\delta$ -elemeno (3,9% para 2%), germacreno D (4,2% para 1,1%) e espatulenol (3,2% para 2,3%) (Tabela 6). É possível observar a nítida diminuição de massa de óleo essencial extraído nos tempos de 4h que obteve uma média de 0,2g de óleo coletado, e 6 horas com é massa média de 0,06g (Figura 18), demonstrando de fato que extrações em longo período não são estratégias que garantem melhores resultados em termos mercadológicos.

Se tratando da presença de componentes químicos, as amostras não apresentaram grandes diferenças, no entanto, quando se analisa a quantidade desses compostos nos diferentes períodos de tempo é possível observar um decaimento nas concentrações de vários sesquiterpenos (Tabela 6). Destacam-se os componentes majoritários, Curzereno,  $\beta$ -elemeno e Germacreno B

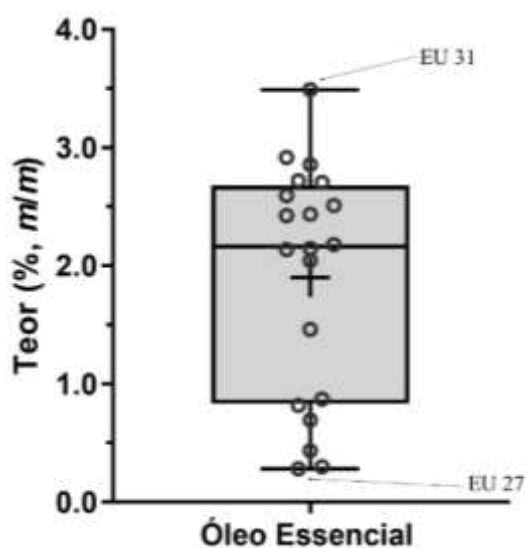
que com 2h de extração apresentaram concentrações de 41%, 7,9% e 7,4%, respectivamente, e na sexta hora esses percentuais caíram para 22%, 7,3% e 0,68%. Essa diminuição nas concentrações dos constituintes do óleo essencial com o decorrer do tempo de destilação demonstra o esgotamento dos componentes no tecido vegetal e pode alterar significativamente as propriedades desse produto (Peng; Don; Tahrel, 2012).

Para além da discussão envolvendo tempo e custo de operação do equipamento, há de se considerar a qualidade química do óleo essencial em função do tempo de destilação. Neste contexto, as propriedades biológicas dependem da composição e, portanto, de acordo com a destinação do óleo essencial, este fator deve ser somar na hora de se decidir qual o melhor tempo de extração, conforme tem sido relatado na literatura (Cavalcanti *et al.*, 2015). O óleo essencial de pitanga apresenta uma rica composição de sesquiterpenos, média de 90% (Rodrigues *et al.*, 2013), substâncias essas que necessitam de um tempo maior para serem extraídas, como foi observado nos tempos de destilação, onde os principais sesquiterpenos foram retirados em maior quantidade a partir da 1ª hora.

O parâmetro de gasto energético no processo extrativo é importante de se destacar tanto para a indústria quanto para o meio acadêmico. A busca por métodos de extração sustentáveis, eficientes e com menos impactos ambientais conciliando com a diminuição de gastos são objetivos importantes para o uso da flora nativa e estão sendo trabalhados em pesquisas científicas (Kusuma; Mahfud, 2018). Novas técnicas estão sendo amplamente utilizadas no meio acadêmico visando aumentar a eficiência extrativa e diminuir impactos socioambientais, como a hidrodestilação assistida por micro-ondas, que apresenta resultados mais eficientes que os métodos tradicionais (Megawati *et al.*, 2019), no entanto, a implementação dessas novas tecnologias em escala industrial encontra obstáculos logísticos e de investimento.

## **5.2 Diversidade química do óleo essencial de pitangueira: Análise quantitativa**

Foi possível descrever a variabilidade do teor (% , *m/m*) dos óleos essenciais das folhas de 20 acessos de *E. uniflora* acessadas *in situ*. O que se encontrou foi uma elevada variação quanto aos teores dos óleos essenciais, de 0,28% à 3,5% (Figura 19). O espécime EU31 que obteve maior rendimento percentual foi coletada no município de Campos dos Goytacazes, RJ, e a planta EU27 com menor rendimento foi coletada em Macaé, RJ. A média de rendimento entre os óleos obtidos foi de 1,9%, a mediana foi de 2,2% e desvio padrão de 0,98% (Figura 19).



**Figura 19.** Descrição do teor (% m/m) de óleo essencial obtido das folhas de 20 espécimes de pitangueira acessados no estado do Rio de Janeiro. Gráfico de Boxplot, a linha central representa a mediana, a cruz representa a média, as barras indicam o desvio padrão e os círculos o teor de óleo essencial obtido dos 20 acessos investigados.

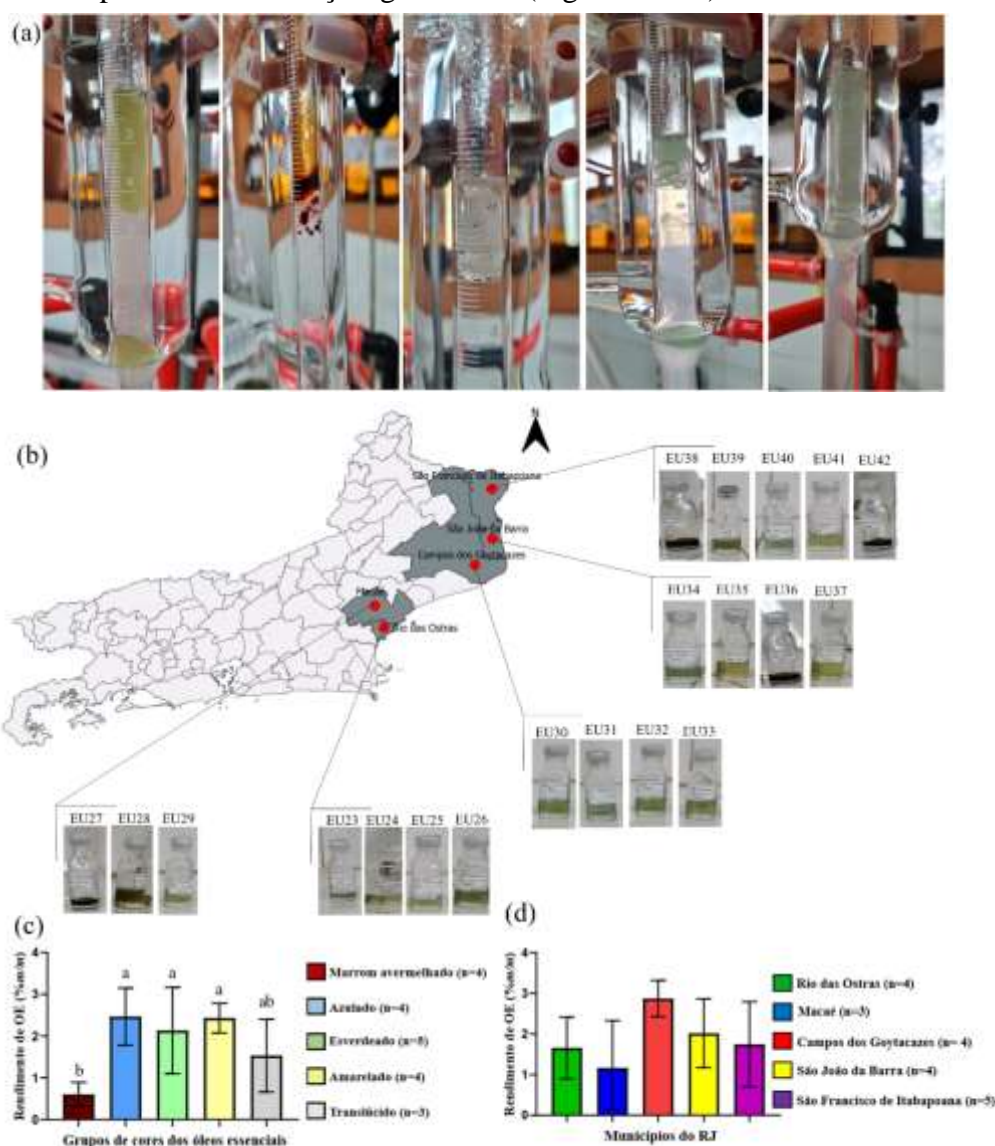
O cálculo do teor máximo e teor médio do óleo essencial da população de *E. uniflora* estudada (3,5 e 1,9% m/m, respectivamente), demonstram resultados de rendimentos altos quando comparados com a literatura (Figura 19). Cipriano *et al.*, (2021) em estudo que avaliou uma população de pitangueiras no Paraná encontraram variações de 0,22 à 1,68%, Sobeh *et al.*, (2016) em um estudo realizado no Egito apontaram um rendimento de 1,27% e Melo *et al.*, (2007) em análises feitas com espécimes de pitanga na cidade do Rio de Janeiro apresentaram rendimentos variando de 0,4% à 1,1%. Esses resultados sendo submetidos a uma comparação com rendimento de outras plantas que apresentam o óleo essencial com produto, também se apresentam com ótimos rendimentos, como exemplo temos o capim limão (*Cymbopogon citratus*) que obtém cerca de 1,52% (Bassolé *et al.*, 2011) de rendimento, hortelã (*Mentha arvensis*) que varia de 0,3% à 1,2% de teor em diferentes cultivares, hortelã pimenta (*Mentha piperita*) que varia de 0,17% à 0,55% nos diferentes cultivares (Verma *et al.*, 2010) e lavanda que apresenta em torno de 2,6% de rendimento (Hosseini *et al.*, 2019).

Relacionando os rendimentos encontrados neste trabalho com espécies da família Myrtaceae temos algumas espécies de eucalipto com variações de 0,3% à 3%, *Corymbia citriodora* (2,7%), *Corymbia intermedia* (0,25%), *Corymbia maculata* (2%) e *Eucalyptus andrewsii* (3,2%), rendimentos relativos a 3 horas de hidrodestilação (Silou *et al.*, 2009; Filomeno *et al.*, 2017). Dentro do gênero *Melaleuca* a produtividade de óleo essencial tem relativa expressividade e muita variação (0,06% à 2,8%) com destaque para *Melaleuca quinquenervia* alcançando 3%(m/m) em uma extração de 7 horas (Ireland *et al.*, 2002). Se tratando do gênero *Psidium*, os rendimentos são os mais baixos, com destaque para a goiabeira (*Psidium guajava*) com variações de 0,17% à 0,54% em hidrodestilações de 4 horas (da Silva de Souza *et al.*, 2017).

Quando comparamos dentro do próprio gênero *Eugenia* encontram-se produtividades variáveis, sendo algumas baixas como em *Eugenia stipitata* (0,7%), *Eugenia pyriformis* (0,4%) e *Eugenia brasiliensis* (0,08% à 0,14%) (Apel *et al.*, 2004; Siebert *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2020), e outras espécies com rendimentos altos como em *E. supraciliaris* com variações de 2,4% à 2,8% (%v/m) (Aboutabl *et al.*, 2011; Abdelhameed *et al.*, 2023). Dentre a maioria dos

resultados de rendimentos encontrados na literatura para as diversas espécies apresentadas nenhuma atinge a produtividade de 3,5% (m/m) encontrado em um dos espécimes coletado *in situ*, essa comparação evidencia que o resultado deste trabalho apresenta grande relevância tendo em visto o rendimento do indivíduo EU31.

Durante o processo de extração foi possível observar uma diversidade de cores para os óleos essenciais de pitangueira, as quais foram identificadas por análise visual como marrom-avermelhado, azulado, esverdeado, amarelo e translúcido (Figura 20 – a). Realizando um mapeamento das cores dos óleos essenciais de acordo com os municípios de coleta não foi possível estabelecer uma relação entre as duas variáveis em uma visão geral, no entanto, para o município de Campos dos Goytacazes é visível um certo padrão entre rendimentos e cores próximas (Figura 20 - b). Foi realizado o teste tukey com as médias de teor dos óleos essenciais agrupados pelas colorações e essa análise apresentou diferença significativa (Figura 20 - c), é possível observar que os óleos marrons avermelhados apresentaram o menor rendimento médio significativamente diferente de grupos de óleos com outras colorações. Levando em consideração as variáveis rendimento e município de coleta da espécie vegetal, o teste de médias não apresentou diferença significativa (Figura 20 – d).



**Figura 20.** Óleos essenciais com diferentes cores (a). Mapa do Estado do Rio de Janeiro associado a imagens dos frascos de coleta dos óleos de *E. uniflora* (b). Gráfico com teor (% ,

m/m) de óleo essencial em função das cores observadas durante e após a extração, as barras representam a média do teor de óleo essencial e as linhas no topo das barras representam o desvio padrão entorno da média, letras iguais representam resultado não significativo pelo teste de Tukey (5%) (c). Gráfico com teor (% m/m) de óleo essencial em função dos municípios de coleta (d).

Essa variedade de cores encontradas em espécimes de pitangueira neste trabalho demonstra de forma visual a diversidade química intraespecífica de terpenoides. O resultado que se destacou foi a diferença estatística nas médias dos óleos de coloração marrom avermelhado (Figura 21 – b), é possível observar que esses óleos apresentaram o menor rendimento médio, ou seja, plantas que secretam terpenóides com o aspecto desta cor, os produzem em menor quantidade para *E. uniflora*, estabelecendo uma relação entre o baixo rendimento e a cor do óleo essencial para esse padrão.

A variação nos parâmetro de rendimento e coloração nos espécimes de *E. uniflora* coletados em ambiente natural pode ser explicada pelo fato de estarem sobre diferentes pressões bióticas e abióticas, esses fatores podem alterar os parâmetros quantitativos e qualitativos dos óleos essenciais, que geram variações em consequência de condições edafoclimáticas como, tipo de solo, clima, temperatura, pluviosidade, sazonalidade, herbivoria e competição, além de cada indivíduo apresentar suas próprias cargas genéticas que podem se expressar de formas diferentes (da Costa *et al.*, 2020).

Aprofundando a análise na figura 20, é possível observar uma grande variação em rendimentos para plantas coletadas em ambientes próximos. Como exemplo temos as plantas coletadas em São Francisco de Itabapoana, onde a EU41 apresentou um rendimento de 2,59%, enquanto a planta EU42 coletado a apenas 1,1km de distância apresentou rendimento de 0,43%, esses dados corroboram a hipótese de que essas plantas apresentam diferentes cargas genéticas, visto que os fatores ambientes são muito semelhantes. É importante salientar que as plantas coletadas em Campos dos Goytacazes obtiveram um visível maior rendimento médio, inclusive o espécime EU31 de maior rendimento foi coletado neste município.

Um aspecto importante de se destacar é que a pitangueira apesar de apresentar essa variação química evidente, é uma planta que sofre uma forte pressão da urbanização irregular, que ocupa espaços de restinga em todo o litoral do Rio de Janeiro, esse fenômeno antropológico pode gerar uma possível erosão genética de *E. uniflora* (Clement *et al.*, 1982). A erosão genética pode ser tratada como um apagamento evolutivo de genótipos com potencial biotecnológico e conservacionista, toda essa problemática perpassa a lógica capitalista que cria formas de transformar em bens de consumo o que seriam bens de livre acesso (Delwing *et al.*, 2007). Alguns fatores importantes para a erosão genética são a perda de habitat, extrativismo, competição com espécies exóticas e seleção de cultivares (Delwing *et al.*, 2007; Machado; Machado; Nass, 2011).

### 5.3 Diversidade química do óleo essencial de pitangueira: Análise qualitativa

Com o objetivo de elucidar a diversidade química dos óleos essenciais dos diferentes espécimes de pitangueira coletados no litoral norte do Rio de Janeiro, os componentes químicos foram identificados através de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM), com o auxílio do tempo de retenção de cada composto e os índices de retenção calculados e tabelados (Tabela 7). Todos esses dados foram importantes para direcionar a comparação entre os espectros de massa obtidos com os da literatura especializada (ADAMS, 2017). Os 20 óleos essenciais foram elucidados em uma porcentagem média de substâncias identificadas de

95%. Dentre a riqueza de terpenoides encontradas no óleo essencial de *E. uniflora*, os sesquiterpenos foram os mais abundantes compondo uma média de 94% dos óleos essenciais analisados, com destaque para os sesquiterpenos oxigenados que representam uma média de 75% (Tabela 7).

Com a elucidação da composição química dos óleos essenciais de 20 acessos de *E. uniflora* coletados no estado do RJ (Tabela 7), entre os aspectos qualitativos dos óleos destacam-se a baixa quantidade em monoterpenos, sendo uma característica bem demarcada em *E. uniflora* (Rodrigues *et al.*, 2013; da Costa *et al.*, 2020; Cipriano; Maia; Deschamps, 2021). Alguns pesquisadores encontraram quantidades relativamente maiores de monoterpenos em óleo essencial de pitangueira, como Ogunwande *et al.*, (2005) que extraiu um óleo essencial com 6% de monoterpenos, já outros trabalhos como de Lago *et al.*, (2011) encontraram menos de 3% de monoterpenos no óleo essencial das folhas de pitanga, o presente trabalho corrobora com esses resultados pois apresentou uma média de 1% de monoterpenos totais na composição dos óleos essenciais analisados.

Os resultados obtidos evidenciam a diversidade de sesquiterpenos oxigenados no óleo essencial de pitanga, ademais, dois componentes se destacaram com altos percentuais em 17 e 18 das 20 amostras analisadas, os sesquiterpenos selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido, foram as substâncias mais abundantes nos óleos essenciais de *E. uniflora*, variando de 4,1% (EU27) à 51% (EU31) e de 1,4% (EU42) à 46% (EU39), respectivamente. É válido destacar que o óleo essencial de maior rendimento também foi o óleo essencial com maior proporção percentual de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona.

Além dos componentes selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e sua versão epóxi, os sesquiterpenos curzereno, germacreno B e espatulenol tiveram altos teores nos óleos essenciais em que eram constituintes. O curzereno apesar da baixa frequência de 20%, apresentou um teor médio de 36,5%, e com uma grande expressão no óleo EU25 (59%); germacreno B e espatulenol que foram identificados com uma alta frequência (80% e 95%, respectivamente) obtiveram um teor médio de 7% e 6%, respectivamente. Outros sesquiterpenos com frequências expressivas porém sem grande representatividade em termos de teor foram:  $\beta$ -elemeno, (*E*)-cariofileno,  $\gamma$ -elemeno e germacreno-D, com frequências de 85%, 75%, 75% e 70%, respectivamente, e seus rendimentos médios não passaram de 3% para nenhum desses compostos.

Monoterpenos foram escassos nos óleos essenciais analisados, com baixíssimas frequências e rendimentos. O único monoterpeno importante de se destacar é o linalool, que é amplamente associado a atividades biológicas, no entanto seu teor não chegou a 2% nos óleos em que o mesmo estava presente.

O principal componente encontrado em alto teor e alta frequência na população estudada foi o selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, sesquiterpeno amplamente identificado no óleo essencial de pitangueira com percentuais variados, 17,8% (Ogunwande *et al.*, 2005), 29% (Cipriano; Maia; Deschamps, 2021), em alguns casos os percentuais são baixíssimos, 0,3% (da Costa *et al.*, 2020) e 0,24% (Rodrigues *et al.*, 2013). Stefanello (2011), aponta que selina-1,3,7(11)-trien-8-ona juntamente com sua versão epóxi são componentes majoritários em grande parte dos óleos essenciais de *E. uniflora*, juntamente com furanodieno. Tendo um olhar mais criterioso com o resultado encontrado no óleo EU31 que foi classificado como um quimiotipo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido e que obteve o expressivo rendimento de 3,5%, esses resultados destacam o espécime com parâmetros qualitativos e quantitativos melhores no estudo e serve como um indivíduo exemplo para fomentar potencial biotecnológico para futuros trabalhos.

Esse padrão de alto teor desses compostos em plantas localizadas em diferentes municípios sofrendo pressões ambientais diversas, destaca que o fator genético pode influenciar

na expressão das enzimas que integram as vias de síntese dos sesquiterpenos, o que pode explicar o teor tão alto de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (51%) no óleo essencial da planta que obteve o maior rendimento e a diversidade dos 51 compostos elucidados nas 20 plantas analisadas.

**Tabela 7.** Composição química do óleo essencial de folhas de *E. uniflora* acessados em diferentes localidades no estado do Rio de Janeiro.

Substâncias identificadas	IRLc	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
----- Área relativa (%) -----																					
Mirceno	MH 992	-	2,6	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-	-	1,0	0,3	-	-	-	0,7	-
Linalool	MO 1107	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	0,5	-	1,8	1,0	-	-	0,8	-	-
Cymeno < $\rho$ ->	MH 1028	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,06	-	-	-	-	-	-	-	-
Ocimeno <(E)- $\beta$ ->	MH 1050	-	1,5	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-
Patchenol <(E)->	MO 1331	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	-	2,3	-	-	-	3,3
Elemeno < $\beta$ ->	SH 1392	6,1	7,4	5,9	2,4	-	3,1	2,1	1,6	2,5	2,2	2,8	1,9	2,2	-	2,3	1,5	2,8	1,9	3,7	-
Cariofileno <(E)->	SH 1422	7,6	7,9	-	-	3,6	1,9	-	0,7	1,7	1,6	2,6	1,2	0,6	2,3	1,3	-	-	2,8	1,8	8,3
Elemeno < $\gamma$ ->	SH 1435	-	1,5	5,9	0,7	-	2,2	0,6	0,5	0,6	0,8	1,0	0,8	1,3	-	0,8	-	0,8	1,3	0,9	-
Cariofileno <9-epi-(E)->	SH 1465	-	-	4,1	-	1,1	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aromadendreno <allo->	SH 1464	-	-	2,4	-	13,8	1,7	0,5	-	-	-	-	0,5	-	1,4	-	9,5	-	0,7	-	17,0
Aromadendreno	SH 1465	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno D	SH 1486	-	4,2	-	1,2	-	0,7	0,9	-	1,1	0,4	1,9	1,7	1,7	-	1,4	2,0	1,6	0,5	1,8	-
Selineno < $\beta$ ->	SH 1493	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ledeno	SH 1495	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bulneseno < $\alpha$ ->	SH 1495	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Viridifloreno	SH 1496	-	-	-	1,3	-	1,4	1,1	-	-	1,0	1,5	1,4	-	-	0,8	-	-	2,2	1,1	-
Bicyclogermacreno	SH 1500	-	-	-	3,1	-	2,1	1,9	0,4	0,9	1,0	4,1	6,4	2,3	-	2,1	-	0,8	5,1	-	-
Curzereno	SO 1503	34,3	27,8	59,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25,1	-
Amorpheno < $\alpha$ ->	SH 1504	-	-	-	-	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muuroleno < $\alpha$ ->	SH 1518	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,2	-	1,9	-	-	-	1,3
Amorpheno < $\gamma$ ->	SH 1519	-	-	-	-	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-

Continuação da tabela 8...

Cadineno < $\delta$ ->	SH	1524	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,3	-	4,0	-	-	-	-
Amorpheno < $\delta$ ->	SH	1525	-	-	-	-	10,6	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	4,0
Germacreno A	SH	1567	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	1,9	8,3	-	-	-	0,3	-	1,6	-	-	-
Germacreno B	SH	1567	8,0	19,7	7,9	4,6	-	4,4	5,6	0,8	5,3	6,6	0,8	6,1	13,7	-	5,9	-	6,0	4,3	6,8	-
Espatulanol	SO	1590	6,3	2,0	4,9	1,1	20,6	0,9	3,2	4,1	0,4	3,0	-	1,1	0,5	15,1	0,5	15,0	0,5	1,5	0,8	30,3
Oxido de cariofileno	SO	1592	-	1,6	-	-	6,0	-	-	3,7	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	5,2
Globulol	SO	1597	-	1,6	3,8	0,8	-	1,3	-	0,5	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	0,6	-	-
Viridiflorol	SO	1607	-	-	-	0,8	-	0,7	0,4	-	-	-	0,9	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Ledol	SO	1606	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	1,0	-	-	-	-	-	1,3	-	-
Copaen-4- $\alpha$ -ol < $\beta$ ->	SO	1638	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,9	-	10,6	-	-	-	5,0
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	SO	1643	11,6	-	-	47,4	4,1	42,4	34,8	43,6	51,7	36,5	43,5	36,9	45,2	7,1	40,9	14,2	38,2	29,7	37,7	-
Aromadendreno epoxido <allo->	SO	1648	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	2,3
Cadinol <epi- $\alpha$ ->	SO	1657	-	-	-	-	4,4	-	-	-	-	-	-	-	-	4,0	-	1,8	-	-	-	-
Muurolol <epi- $\alpha$ ->	SO	1660	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	4,0
Cadinol < $\alpha$ ->	SO	1672	-	-	-	-	9,2	-	-	-	-	-	-	-	-	14,0	-	5,8	-	-	-	4,4
Selin-11-en-4- $\alpha$ -ol	SO	1674	-	-	-	-	-	-	0,4	0,5	0,5	-	-	0,3	-	-	0,5	-	0,4	-	-	-
Mayurona	SO	1675	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atractylona	SO	1675	-	-	7,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-
Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- $\alpha$ -ol	SO	1691	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amorpha-4,9-dien-2-ol	SO	1699	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
furandieno*	SO	1710	3,6	4,9	5,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	-
Germacrona	SO	1711	-	-	-	-	-	-	0,3	1,5	0,5	0,3	-	-	0,8	-	0,3	-	-	-	-	-
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido	SO	1763	22,5	-	-	35,4	3,8	32,9	44,7	39,4	33,2	42,1	31,7	37,2	30,9	4,3	39,6	14,1	46,1	43,5	12,6	1,4
Acetato de khusinolina	SO	1885	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Continuação da tabela 8..

Hidrocarbonetos de monoterpenos	-	6,1	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	1,06	-	1,0	0,8	-	-	-	0,7	-
Monoterpenos oxigenados	-	-	-	-	2,5	-	-	-	0,5	-	-	0,5	-	1,8	1,0	2,3	-	0,8	-	3,3
Monoterpenos totais	-	6,1	-	-	2,5	-	0,9	-	0,5	-	-	1,6	-	2,8	1,8	2,3	-	0,8	0,7	3,3
Hidrocarbonetos de sesquiterpenos	21,7	42,7	26,5	13,2	32,6	15,4	12,7	4,7	12,0	8,24	23,0	19,9	21,8	27,8	6,6	19,0	13,6	20,9	9,2	30,6
Sesquiterpenos oxigenados	78,3	40,2	73,5	85,9	48,8	80,2	83,8	93,1	86,4	89,6	77,0	77,7	77,3	46,2	90,0	64,9	85,3	77,6	85,4	52,6
Sesquiterpenos totais	100	82,9	100	99,1	81,5	95,7	96,5	97,9	98,4	97,8	100	97,6	99,1	74,0	96,6	83,9	98,9	97,5	94,6	83,2
Total	100	89	100	99,1	84,0	95,7	97,4	97,9	98,9	97,8	100	99,1	99,1	76,8	98,4	86,2	98,9	98,3	95,3	86,5
Não identificados (NI)	-	11,0	-	1,0	16,0	4,3	2,6	2,1	1,1	2,2	-	0,9	0,8	23,1	1,6	13,9	1,2	1,7	4,7	13,0

CL: Classe química; IRLc: Índice de retenção linear calculado; MH: Monoterpeno hidrocarboneto; MO: Monoterpeno oxigenado; SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto; SO: Sesquiterpeno oxigenado.

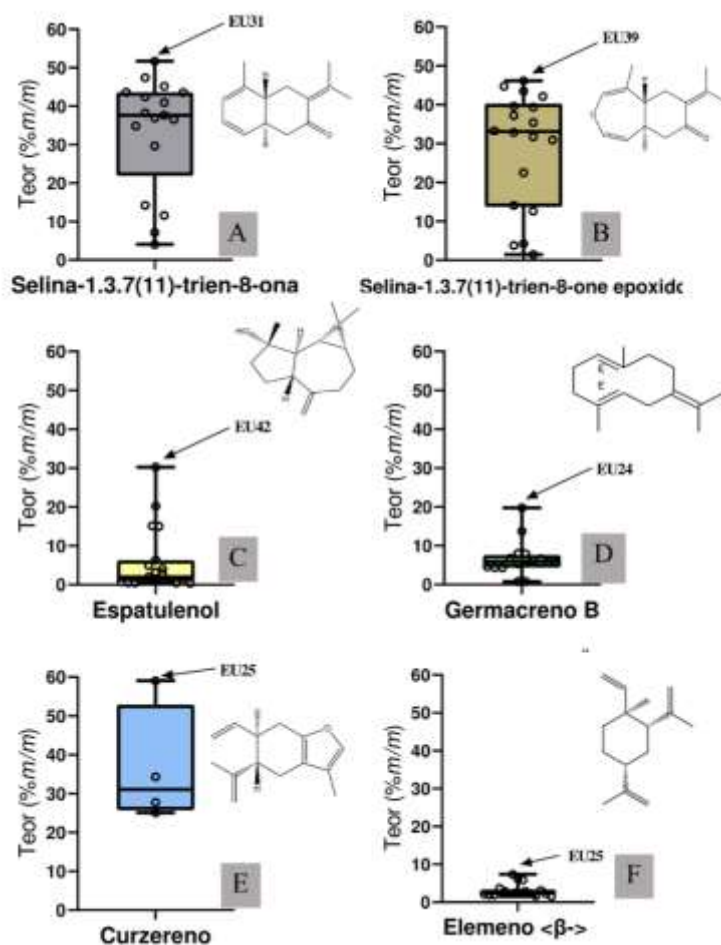
Se tratando da riqueza dos sesquiterpenos elucidados nos óleos essenciais de *E. uniflora*, as maiores frequências de componentes nas amostras foram  $\beta$ -Elemeno, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido, germacreno B, espatulenol e (*E*)-cariofileno. Realizando uma restrição foram selecionadas substâncias com teor de 5% em pelo menos um óleo essencial e/ou 40% de frequência, das 50 substâncias identificadas inicialmente com a restrição foram selecionadas 21 substâncias mais representativas (Tabela 8).

**Tabela 8.** Principais substâncias encontradas nos óleos essenciais *Eugenia uniflora*.

Principais Substâncias <sup>1</sup>	Conc. (%) mín-máx <sup>2</sup>	Ni <sup>3</sup>	Fr(%) <sup>4</sup>
Espatulenol	0,39 - 30,25	19	95
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido	1,4 - 46,12	18	90
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	4,04 - 51,69	17	85
Elemeno < $\beta$ ->	1,52 - 7,35	17	85
Germacreno B	0,76 - 19,74	16	80
Cariofileno <(E)->	1,15 - 7,86	15	75
Elemeno < $\gamma$ ->	0,54 - 5,90	15	75
Germacreno D	0,54 - 4,16	14	70
Bicyclogermacreno	0,41 - 6,41	12	60
Germacreno A	0,27 - 8,3	5	25
Germacrona	0,3 - 32,9	8	40
Viridifloreno	0,81 - 2,22	8	40
Curzereno	25,07 - 59,04	4	20
Aromadendreno <allo->	0,49 - 17,1	9	45
Oxido de cariofileno	0,87 - 6,02	5	25
Cadinol < $\alpha$ ->	4,41 - 13,96	4	20
Furanodieno	1,72 - 5,75	4	20
Copaen-4- $\alpha$ -ol < $\beta$ ->	2,89 - 10,59	3	15
Amorpheno < $\delta$ ->	0,96 - 10,65	3	15
Atractylona	0,77 - 7,93	2	10
Cadineno < $\delta$ ->	4,03 - 8,25	2	10

Dados apresentados considerando restrição de 5% em pelo menos um dos óleos essenciais e/ou com frequência (Fr%>40%). Também foram omitidas desta tabela as substâncias não identificadas e co-eluições. <sup>2</sup>Mínimo –máximo em 20 acessos distintos de pitangueira. Frequência <sup>3</sup>absoluta e <sup>4</sup>relativa.

Os compostos mais abundantes tiveram variados teores, como são observados nos gráficos boxplot abaixo (Figura 21). Dentre esses sesquiterpenos que apresentam frequências iguais ou maiores que 80% estão selina-1,3,7(11)-trien-8-ona que tem maior teor no óleo essencial EU31, selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido com alto teor no EU39, espatulenol com alto teor no EU42, Elemeno < $\beta$ -> e germacreno B com maiores teores em EU24. Com o auxílio visual dos gráficos fica evidente que a substância selina-1,3,7(11)-trien-8-ona obteve uma distribuição mais uniforme, enquanto sua versão epóxi se distribuiu com teores mais variados entre os óleos essenciais.



**Figura 21.** Análise descritiva das substâncias de maior frequência e concentração, a linha central representa a média, as barras indicam o desvio padrão e os círculos são as concentrações dos compostos. Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (A); selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido (B); espatulenol (C); germacreno B (D); curzereno (E); elemeno <β-> (F).

O sesquiterpeno curzereno é um componente marcante no óleo essencial de *E. uniflora*, e sua baixa frequência nos indivíduos estudados foi fora do comum (Tabela 8), alguns pesquisadores obtiveram óleos com grandes percentuais deste composto como Rodrigues *et al.*, (2013) que obteve curzereno a 47%. Da Costa *et al.*, (2020) extraíram óleos essenciais com altos teores de curzereno em diferentes estações do ano, chegando a passar dos 50% em colheita e extração no mês de agosto, início do período reprodutivo da planta.

É válido destacar que o curzereno encontrado em diversos óleos essenciais de pitanga é produto de rearranjo por uma reação sigmatrópica, conhecida como rearranjo de Cope que ocorre no sesquiterpeno furanodieno no momento da análise química na rampa de aquecimento do equipamento de cromatografia gasosa. O rearranjo ocorre a partir do aquecimento a 200°C, esse processo também ocorre com o sesquiterpeno oxigenado germacrona que pode sofrer rearranjo para β-elemenona e germacreno B que pode sofrer rearranjo térmico para γ-elemenona (Baldovini; Tomi; Casanova, 2001; dos Santos, 2016), no entanto, nas análises deste trabalho a germacrona foi encontrada em seis óleos essenciais analisados e em nenhum óleo obteve-se presença de β-elemenona.

A principal hipótese levantada com base na literatura é que o curzereno encontrado em altos percentuais nos óleos essenciais EU23, EU24, EU25 e EU41 são produtos do rearranjo de Cope que ocorreu no furanodieno, e para a germacrona esse rearranjo não aconteceu (Chang *et al.*, 2011).

Através dos gráficos de boxplot é possível observar também que algumas substâncias, como espatulenol, germacreno B, elemeno  $\beta$  estiveram presentes em grande parte dos óleos essenciais sendo substâncias com constância em *E. uniflora*, porém em baixas concentrações. Esses compostos são recorrentes neste óleo essencial apresentando variações baixas em seus percentuais (Rodrigues *et al.*, 2013; da Costa *et al.*, 2020; Cipriano; Maia; Deschamps, 2021).

Com a realização da análise de dominância descrita por Nascimento *et al.* (2020) foi possível separar os espécimes em 5 quimiotipos definidos e um grupo misto (Tabela 9), sendo o grupo mais expressivo, o quimiotipo Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido estando presentes em 12 plantas (EU26, EU28, EU29, EU30, EU31, EU32, EU33, EU34, EU35, EU37, EU39 e EU40). Todos os outros grupos definidos apresentaram apenas um representante, sendo o quimiotipo curzereno composto pelo EU25; quimiotipo Curzereno/ Germacreno B composto pelo EU24; quimiotipo Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ Curzereno composto pelo EU41; quimiotipo Espatulenol/ allo-Aromadendreno composto pelo EU42. Além dos quimiotipos definidos, a análise de dominância apontou um grupo indefinido com os óleos EU23, EU27, EU36 e EU38.

**Tabela 9.** Quimiotipos elucidados dentro da população estudada de *E. uniflora* do litoral norte do Rio de Janeiro.

Quimiotipos*	Tipo	Plantas
Curzereno	A	<b>EU25</b> (59%).
Curzereno/ Germacreno B	A/B	<b>EU24</b> (28%, 20%).
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ Curzereno	A/B	<b>EU41</b> (38%, 25%).
Espatulenol/ allo-Aromadendreno	A/B	<b>EU42</b> (30%, 17%).
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido	A/B	<b>EU26</b> (47%, 35%), <b>EU28</b> (42%, 33%), <b>EU29</b> (35%, 45%), <b>EU30</b> (44%, 39%), <b>EU31</b> (52%, 33%), <b>EU32</b> (36%, 42%), <b>EU33</b> (43%, 32%), <b>EU34</b> (37%, 37%), <b>EU35</b> (45%, 31%), <b>EU37</b> (41%, 40%), <b>EU39</b> (38%, 46%), <b>EU40</b> (30%, 43%).
Misto		<b>EU23, EU27, EU36, EU38.</b>

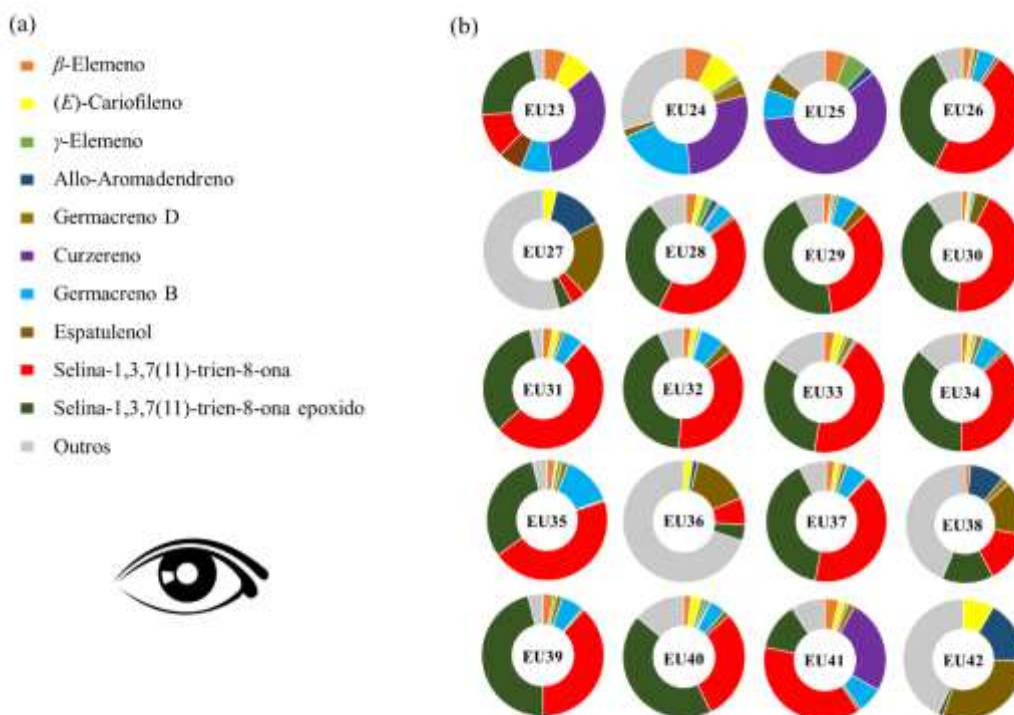
\*Critério de dominância: A: se  $A \geq 2B$  e  $A \geq 25\%$ ; A-B: se  $B \geq 15\%$  e  $B \geq 2C$ ; A-B-C se  $C \geq 10\%$  e  $C \geq 2D$ ; Misto: se nenhuma opção for atendida.

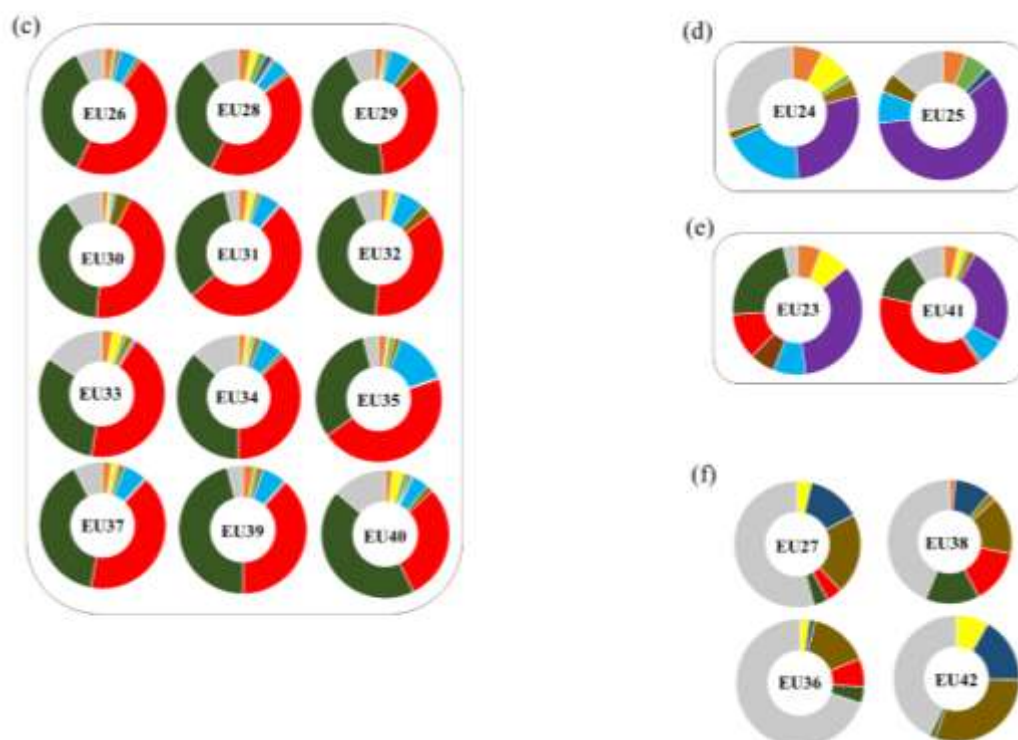
A definição dos quimiotipos apontou 5 grupos bem definidos, sendo 1 quimiotipo mais expressivo agrupando onze indivíduos analisados e outros 4 grupos contendo apenas um indivíduo cada (Tabela 9). São escassos os estudos relacionados a diversidade química e elucidação de quimiotipos com *E. uniflora*, mas alguns trabalhos relatam a presença de polimorfismo químico intraespecífico em certas regiões do Brasil, como uma pequena população estudada no Pará que apresentou 4 quimiotipos (Figueiredo *et al.*,

2019) e 36 genótipos estudados no Paraná que se agruparam em 6 grupos químicos (Cipriano; Maia; Deschamps, 2021), nestes trabalhos foram observados destaques em grupos químicos contendo curzereno.

Segundo a literatura, existe uma discussão em que a cor do fruto pode influenciar no tipo químico do óleo essencial extraído das folhas, Costa *et al.*, (2010) encontraram diferentes quimiotipos de acordo com a cor do fruto de cada planta, no respectivo trabalho o quimiotipo contendo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e sua versão epóxido possuía fruto na vermelho-alaranjado, e no presente trabalho as plantas frutificadas com frutos alaranjados foram elucidados como o quimiotipo Selina.

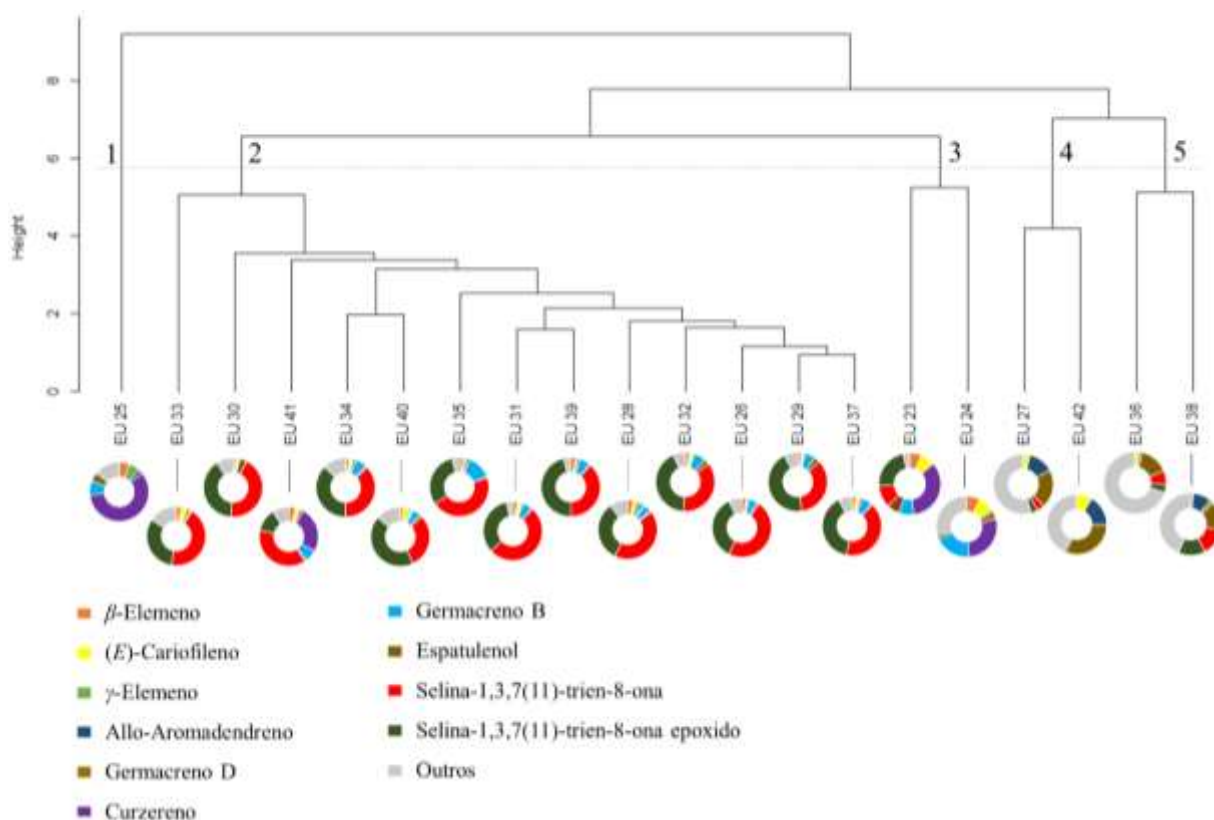
Utilizando-se uma grande restrição de teor de 15% em pelo menos um óleo essencial e/ou frequência de 70%, foram selecionados 10 componentes majoritários, e através dessa base de dados foram produzidos gráficos de rosca coloridos para a formação de agrupamentos por análise visual dos arranjos químicos (chemoarrays). A análise visual delimitou três grupos definidos e um grupo misto (Figura 22). O agrupamento destacado na figura 22–c foi formado pelos exatamente 12 óleos essenciais do quimiotipo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido, com a análise de arranjos químicos fica nítida a dominância dessas duas substâncias nos óleos essenciais supracitados, somente elas compõem mais de 70% da totalidade identificada, destacando esse quimiotipo como o mais expressivo do presente trabalho.





**Figura 22.** Agrupamento por análise visual dos arranjos químicos (chemoarrays). As cores representam as 10 substâncias com maiores concentrações, sendo maior que 15% em pelo menos um óleo e/ou 70% de frequência (a); gráficos de rosca organizados em ordem de coleta das plantas (b); grupos formados por similaridade de substâncias (c), (d) e (e); grupo misto sem similaridade visual (f).

Com base no método UPGMA que se utiliza do cálculo da distância euclidiana foi possível gerar um dendrograma (Figura 23). Para garantir a veracidade da representação em dendrograma foi realizado o teste de coeficiente de correlação cofenética resultou em uma alta correlação com 0,94%, a 1% de probabilidade pelo teste de Mantel baseado na correlação de Pearson, garantindo confiabilidade no gráfico gerado a partir da base de dados.



**Figura 23.** Análise de agrupamentos hierárquicos, dissimilaridade química, pelo método UPGMA e baseado na distância Euclidiana estimado entre variáveis independentes (20 óleos essenciais) e dependentes (20 substâncias químicas). Os gráficos de rosca coloridos representam os óleos essenciais de cada uma das 20 plantas acessada *in situ* e as cores a proporção de cada uma das 10 substâncias majoritárias em relação ao total. A linha azul tracejada representa o ponto de corte ótimo com base no método KGS e os algarismos arábicos (1-5) representam os grupos similares. As cores dispostas nas linhas do dendrograma representam a legenda das substâncias majoritárias identificadas por cores.

Também foi realizado por meio do algoritmo de Kelley-Gardner-Sutcliffe (Kelley *et al.*, 1996) o número de grupos ótimos, para verificar quantos grupos estaticamente distintos seriam formados. Com base nesse algoritmo, foi possível distinguir a formação de cinco grupos distintos (Figura 23). É possível analisar que a formação dos 5 acompanhou de forma semelhante com leves mudanças a análise dos quimiotipos elucidados na tabela 9, os grupos se definiram da seguinte forma: **grupo 1)** EU25, indivíduo coletado em Rio das Ostras, sendo o quimiotipo curzereno; **grupo 2)** o grupo mais expressivo composto por EU33, EU30, EU41, EU34, EU40, EU35, EU31, EU39, EU28, EU32, EU26, EU29 e EU37, sendo 12 quimiotipos selina-1,3,7(11)-trien-8-ona / selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido e o EU41 sendo o quimiotipo Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/Curzereno; **grupo 3)** EU23 e EU24, ambos coletados em Rio das Ostras, sendo categorizados como grupo químico misto e Curzereno/ Germacreno B, respectivamente; **grupo 4)** EU27 e EU42, coletados nos municípios de Macaé e São Francisco de Itabapoana, respectivamente, sendo um indivíduo categorizado no grupo misto e quimiotipo Epatulenol/ allo-Aromadendreno, respectivamente e por fim **grupo 5)** EU36 e EU38, coletados em São João da Barra e São Francisco de Itabapoana, respectivamente, sendo ambos classificados no grupo misto.

A análise visual de arranjos químicos (Figura 22) e o agrupamento hierárquico pelo método UPGMA (Figura 23) corroboram a união do grupo de 12 óleos essenciais do quimiotipo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido, esse resultado é importante pois apresenta ao estudo acadêmico focado nessa planta um novo quimiotipo com grande expressividade no Estado do Rio de Janeiro. Existem poucas informações sobre esses componentes quanto sua importância para a diversidade de pitangueira e também em questões de atividade biológica, Amorim *et al.*, (2009) trabalhou com um óleo essencial contendo alto teor de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e versão epóxi, o foco estudo foi testar a atividade antioxidante destes sesquiterpenos e o resultado foi negativo.

O conjunto de múltiplas análises que apresentaram os mesmos resultados de agrupamentos levando em consideração diferentes parâmetros garantem confiabilidade nos resultados apresentados. Foi proposto também uma análise de componentes principais (PCA), no entanto, devido a grande quantidade de out-liers na base de dados a proporção acumulativa concentrou mais de 70% apenas na PC5, deixando inviável o uso desta técnica analítica.

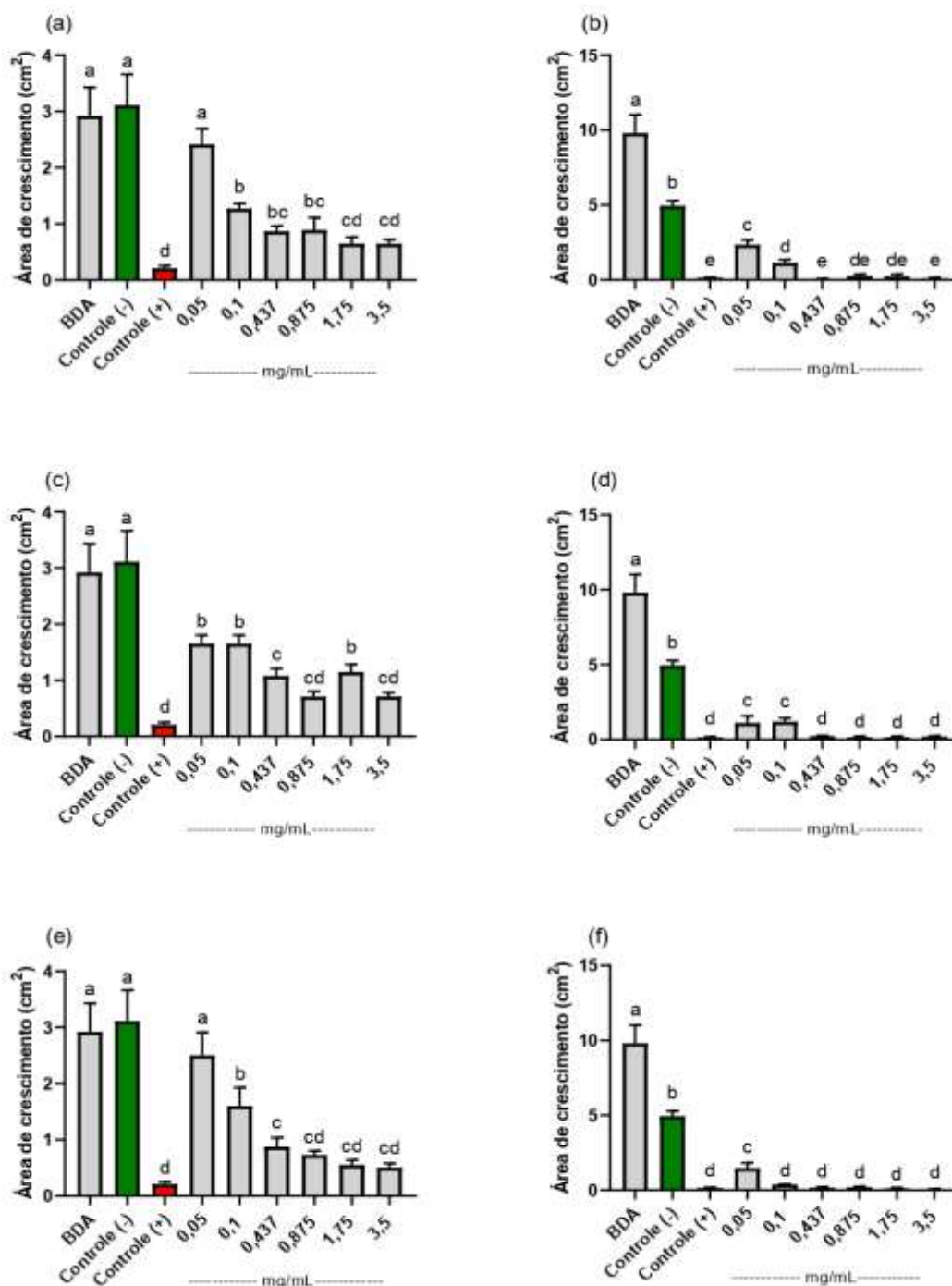
Outro destaque dentro dos quimiotipos encontrados é o tipo químico curzereno (59%), sendo um resultado que corroboram dentro dos estudos de perfil e diversidade química com pitangueira em outras partes do Brasil. O curzereno é amplamente encontrado no óleo essencial de *E. uniflora*, em altas concentrações (Gonçalves *et al.*, 2021). O trabalho de Costa *et al.* (2020), avaliando espécimes de *E. uniflora* do Pará de acordo com as estações do ano apontou uma grande concentração de curzereno durante o ano inteiro, com maior expressão dessa substância nos meses de floração (53%), em pesquisa desenvolvida no Maranhão a pitangueira apresentou 47% de curzereno em seu óleo essencial (Rodrigues *et al.*, 2013). Um outro fator que evidencia que esse é um importante resultado foi o rendimento de 2,4% do espécime EU25 (Quimiotipo curzereno) sendo, maior que a média da população estudada.

Embora, os resultados deste trabalho sejam provenientes de uma amostra de 20 plantas acessadas em uma região restrita ao litoral norte do estado do Rio de Janeiro, o resultado em si já é um excelente indicativo de diversidade intraespecífica para a espécie estudada. Os ineditismos nos quimiotipos de *E. uniflora* como esses supracitados são importantes na pesquisa acadêmica, pois abre novas perspectivas no estudo com plantas medicinais nativas, além auxiliar no fundamento científico para a conservação, utilizando sustentável e valorização da nossa flora.

#### 5.4 Atividade biológica contra fungos de interesse agrícola

Objetivando avaliar atividade biológica contra fungos de importância agrícola foram realizados seis experimentos com cinco diferentes quimiotipos de *E. uniflora* em duas espécies distintas de fungos, sendo o *Colletotrichum gloeosporioides* e *Pestalotia* sp.. Com os resultados foi possível observar capacidade inibitória dos óleos essenciais de todos os quimiotipos (Figura 24), nos experimentos contra *C. gloeosporioides* os óleos EU31 e EU25 apresentaram diferença significativa com os tratamentos de testemunha e controle (-) a partir da concentração de 0,1 mg/mL, enquanto com EU42 a diferença estatística foi observada a partir da concentração mais baixa testada (0,05 mg/mL). Nas maiores concentrações a inibição do crescimento do micelial foi extrema, sendo igual significativamente ao controle (+) composto pelo fungicida sistêmico Folicur (Figura 24 – a, c, e).

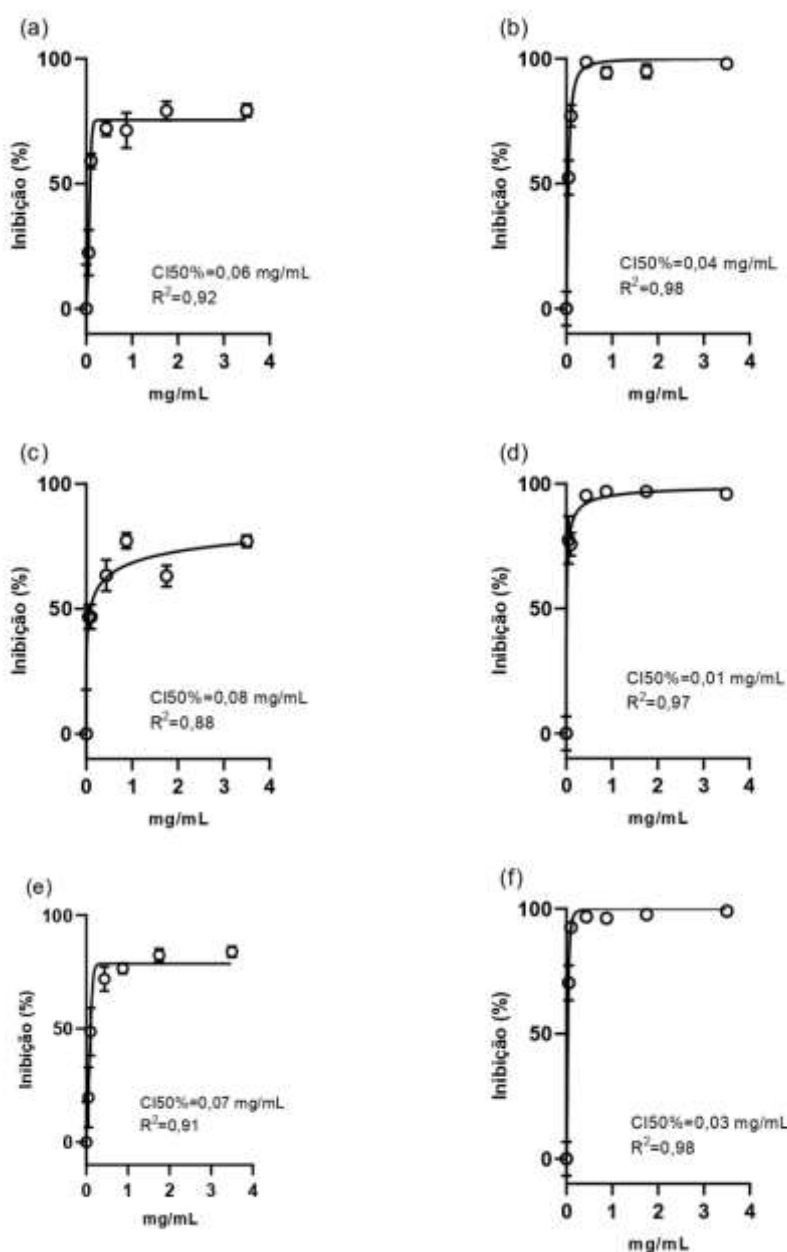
Nos experimentos com o fungo *Pestalotia* sp. a inibição foi ainda mais eficiente com os três óleos essenciais testados tendo diferença significativa com o controle (-) na concentração mais baixa de 0,05 mg/mL. Os três quimiotipos testados também promoveram inibição significativamente iguais ao controle (+) em concentrações baixíssimas a partir de 0,4mg/mL (Figura 24 – b, d, f).



**Figura 24.** Gráficos de barras de experimentos de atividade biológica em fungos de interesse agrícola com tratamentos de diferentes quimiotipos de *E. uniflora*. Quimiotipos EU31, EU42 e EU25 contra *C. gloeosporioides* (a, c, e); quimiotipos EU31, EU24 e EU28 contra *Pestalotia* sp. (b, d, f). As barras representam as médias e as linhas acima das

barras representam o desvio padrão, letras diferentes indicam diferença estatística (teste Tukey).

A partir dos dados das áreas do crescimento micelial dos fungos, os valores foram convertidos em porcentagem de inibição para estabelecer gráficos de regressão, a partir destes dados foi feita uma análise e cálculo da concentração inibitória de 50% (CI50). Nos experimentos com *C. gloeosporioides* foram calculados CI50 baixos para todos os óleos essenciais, com destaque para EU31 apresentando a CI50 = 0,06 mg/mL (Figura 25 – a). Nos experimentos com *Pestalotia* sp. as CI50 foram ainda menores, tendo o óleo EU24 a menor CL50 = 0,01 mg/mL (Figura 25 – d).



**Figura 25.** Curva de dose-resposta utilizando modelo estatístico não-linear com a finalidade de estabelecer a concentração de óleo essencial necessário para inibir o

crescimento dos fungos em 50% (CI50). Quimiotipos EU31, EU42 e EU25 contra *C. gloeosporioides* (a, c, e); quimiotipos EU31, EU24 e EU28 contra *Pestalotia* sp. (b, d, f).

Todas as análises de potencial antifúngico apresentaram ajuste do  $R^2$  satisfatório ( $>0,85$ ) e através de uma análise visual de amostras das placas com os diferentes tratamentos após 5 dias de incubação observou-se que para o fungo *C. gloeosporioides* os óleos testados (EU31, EU42 e EU25) promoveram um efeito fungistático, ou seja, não matando o fungo por completo, e contra o fungo *Pestalotia* sp. o efeito foi fungicida a partir da concentração 0,1mg/mL para todos os quimiotipos (EU31, EU24 e EU28) de óleo essencial testados (Tabela 10), demonstrando uma maior suscetibilidade deste fungo para os óleos essenciais da folha de pitanga.

Os resultados obtidos nos experimentos com os fungos *C. gloeosporioides* e *Pestalotia* sp. demonstraram grande capacidade inibitória dos quimiotipos de *E. uniflora* testados (Figura 25). Alguns trabalhos apontam o potencial antifúngico de componentes do metabolismo especial da pitangueira, como o extrato alcoólico das folhas dessa planta que apresentaram atividade inibitória contra o fungo dermatófito *Trichophyton rubrum* em uma concentração de 500 µg/mL (Hasimoto e Souza *et al.*, 2002). Taninos, ácido gálico e polifenóis como catequinas presentes nesta espécie também possuem um efeito inibitório moderado contra fungos de interesse médico do gênero *Candida* sp. (Ferreira *et al.*, 2020).

Se tratando do óleo essencial e atividade biológica contra fungos, são poucos os trabalhos explorando esse potencial na espécie. Algumas pesquisas mostram que o óleo essencial de *E. uniflora* rico em selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido (36% e 27%, respectivamente) não apresentaram atividade biológica viável contra *Candida* spp. (dos Santos *et al.*, 2018), em um dos poucos estudos da literatura sobre o efeito desse óleo em fungos de importância agrícola a pesquisadora Marques (2014) utilizando óleo essencial rico em selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e sua versão epóxi fez testes em *Sclerotinia sclerotiorum* que causa o mofo branco em feijão preto, e os resultados foram positivos apresentando uma inibição de mais de 60% a uma concentração de 2.500ppm. A literatura evidencia que a ação de óleos essenciais com perfis químicos semelhantes é negativa em fungos patogênicos em humanos e positiva em fungos fitopatogênicos, os resultados encontrados com testes feitos utilizando o quimiotipo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido (EU31) corroboram o que é observado nas pesquisas acadêmicas.

Outros quimiotipos também obtiveram resultados positivos, como o quimiotipo curzereno/ germacreno B (EU24) que apresentou  $CI50\% = 0,01$  mg/ML (Figura 25 – d) e a literatura aponta efeito inibitório moderado do óleo essencial de pitanga com alta concentração de curzereno (43%) em fungos leveduriformes (Costa *et al.*, 2010), o quimiotipo curzereno (EU25) encontrado no presente trabalho em apenas um óleo essencial é relativamente comum quando comparado a literatura, apesar disso o curzereno é constantemente elucidado nesta espécie em concentrações médias e altas (Sobeh *et al.*, 2016; da Costa *et al.*, 2020), quando entram na comparação óleos essenciais de outras plantas com presença de curzereno pode-se destacar *Curcuma longa* que apresenta curzereno e possui atividade inibitória contra fungos fitopatogênicos dos gêneros *Fusarium* spp. *Cladosporium* sp. e *Colletotrichum* sp (Chen *et al.*, 2018), é importante salientar que não necessariamente é o curzereno que garante o efeito fungicida devido ao óleo essencial apresentar uma natureza química complexa.

Avaliando o quimiotipo espatulenol/ allo-aromadendreno (EU42) que também se destacaram nos testes com fungos (Figura 25 – c) é possível associar esses componentes

majoritários como os principais contribuintes na atividade biológica, no entanto, não existem estudos que avaliem esses sesquiterpenos isolados. Todos os resultados positivos quanto a capacidade inibitória dos quimiotipos de *E. uniflora* abrem uma gama de oportunidades de pesquisas aprofundadas nessa espécie, o que valoriza nossa flora nativa, garante força de conservação para nossos ecossistemas e amplia possibilidades de implementações biotecnológicas. Apesar disso, quando se leva em consideração composição química, atividade biológica e rendimento de óleo, o indivíduo EU31 apresentou um melhor resultado em todos esses parâmetros, sendo o óleo essencial e quimiotipo a amostra que obteve os melhores resultados em termos quantitativos, qualitativos e de potencial biotecnológico na presente pesquisa.

**Tabela 10.** Concentração necessária de óleo essencial para inibir o crescimento dos fungos em 50% (CI50) .

Quimiotipo	Fungo	CI50 (mg/mL)	R <sup>2</sup> <sup>a</sup>	GL <sup>b</sup>	SQ <sup>c</sup>
EU31 - Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona / Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido	<i>C.gloeosporioides</i>	0,06606	0,9288	31	2215
EU42 - Espatulanol / allo-Aromadendreno	<i>C.gloeosporioides</i>	0,08882	0,8821	33	2716
EU25 - Globulol	<i>C.gloeosporioides</i>	0,07463	0,9152	31	3032
EU31 - Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona / Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epoxido	<i>Pestalotia</i> sp.	0,04633	0,9816	33	744,8
EU24 - Curzereno / Germacreno B	<i>Pestalotia</i> sp.	0,009740	0,9740	33	982,1
EU28 - Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona / Germacrona	<i>Pestalotia</i> sp.	0,03412	0,9863	33	545,1

a – coeficiente de determinação. b – Graus de liberdade. c – Soma dos quadrados

## 6. CONCLUSÃO

O experimento de cinética de extração do óleo essencial de *Eugenia uniflora* apontou um tempo ótimo de extração entre 2h e 3h, nesses tempos são coletados 49% e 59% do total de óleo essencial estimado, respectivamente. A delimitação do tempo ótimo de hidrodestilação é uma informação importante que visa a otimização do gasto energético, mão de obra e uso dos equipamentos.

Avaliando os óleos essenciais dos espécimes coletados *in situ*, o cálculo de rendimento apontou uma variação de 0,28% (EU27) à 3,49% (EU31), e uma média de 1,9%. Esses resultados experimentais se fundamentam na literatura e o maior rendimento é inédito, garantindo fundamento científico para o potencial biotecnológico inexplorado nessa espécie. Através das análises químicas foi possível identificar 50 componentes nos óleos essenciais, dentre esses 21 compostos foram mais expressivos em concentração e frequência. Os sesquiterpenos oxigenados foram majoritários com destaque para selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido.

A elucidação de quimiotipos evidenciaram 5 grupos químicos bem definidos com destaque para o quimiotipo selina-1,3,7(11)-trien-8-ona/ selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido com 12 óleos representantes. A análise visual de arranjos químicos (chemoarrays) apontou o mesmo grupo de 12 óleos em destaque e a análise de agrupamentos hierárquicos (UPGMA) também agrupou por similaridade esse quimiotipo no dendrograma. Todas essas análises demonstrando resultados em comum garantem confiabilidade nesse grupo químico.

Os testes de atividade fungicida com os diferentes quimiotipos da população estudada sobre fungos de interesse agrícola apresentaram alto potencial inibitório, sendo EU31 o espécime com melhores resultados quando se junta outros parâmetros quantitativos e qualitativos do óleo. Esses resultados trazem novas perspectivas para o uso do óleo essencial de pitangueira, além de fomentar argumentos científicos para a conservação e uso sustentável da nossa biodiversidade nativa.

## 7. REFERÊNCIAS

ABDELHAMEED, M. F. et al. *Eugenia supra-axillaris* Essential Oil and Its Nanoemulsion : Chemical Characterization , In Vivo Anti-Inflammatory , Analgesic , and Antipyretic Activities. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics** v. 2023, p. 1-14, 2023.

ABOUTABL, E. A. et al. Composition and bioactivity of essential oils from leaves and fruits of *myrtus communis* and *eugenia supraxillaris* (myrtaceae) grown in egypt. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 14, n. 2, p. 192–200, 2011.

AGUIAR, R. V. et al. Variabilidade genética de *Eugenia uniflora* L. em remanescentes florestais em diferentes estádios sucessionais. **Revista Ceres**, v. 60, n. 2, p. 226–233, 2013.

AMORIM, A. C. L. et al. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf

- essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**, v. 16, n. 10, p. 923–928, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2009.03.009>>.
- APEL, M. A. et al. Chemical composition of the essential oils of eugenia beaurepaireana and eugenia pyriformis: section dichotomae. **Journal of Essential Oil Research**, v. 16, n. 3, p. 191–192, 2004.
- AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas *Eugenia uniflora* L. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55–61, 2003.
- BAGETTI, M. et al. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 147–154, 2011.
- BALDOVINI, N.; TOMI, F.; CASANOVA, J. Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by <sup>13</sup>C-NMR. **Phytochemical Analysis**, v. 12, n. 1, p. 58–63, 2001.
- BASSOLÉ, I. H. N. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. **Phytomedicine**, v. 18, p. 1070–1074, 2011.
- BECKER, N. A. et al. Biological properties of *Eugenia uniflora* L. essential oil: phytochemistry composition and antimicrobial activity against gram negative bacteria. **Vitalle**, v. 29, n. 1, p. 22–30, 2017.
- BESCHORNER; BÜNDCHEN, M. Análise anatômica e histoquímica das folhas de *Eugenia uniflora* L. **ScientiaTec: Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFRS**, v. 7, n. 3, p. 146–153, 2020.
- BICCHI, C.; JOULAIN, D. Techniques for preparing essential oils and aromatic extracts. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 33, n. 2, p. 133–134, 2018.
- BIERHALS, A. N. et al. *Eugenia myrsinifolia* dispar em pitangueira: parasitoides associados, dinâmica populacional e distribuição de galhas na planta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 1, p. 109–115, 2012.
- BRATTI, C. et al. Levantamento de Plantas Medicinais Nativas da Fazenda Azulão em Dourados-MS. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 675–683, 2014.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Volume 2 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.
- CHANG, R. et al. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *eugenia uniflora* (pitangueira) leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 392–396, 2011.

CHEN, H. et al. Optimization extraction of rosemary essential oils using hydrodistillation with extraction kinetics analysis. **Food Science and Nutrition**, v. 9, n. 11, p. 6069–6077, 2021.

CHEN, C.; LONG, L.; ZHANG, F.; CHEN, Q.; CHEN, C.; YU, X. et al. Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium graminearum*. **PLoS ONE**, v.13, n. 3, 2018.

CIPRIANO, R. R.; MAIA, B. H. L. N. S.; DESCHAMPS, C. Chemical variability of essential oils of eugenia uniflora l. Genotypes and their antioxidant activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 93, n. 1, 2021.

CLEMENT, C. R.; MÜLLER, C. H.; FLORES, W. B. C. Recursos genéticos de espécies frutíferas nativas da Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, v. 12, n. 4, p. 677–695, 1982.

COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N. Chemical composition of essential oils of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 12, p. 877–886, 2007.

COSTA, D. P. et al. Seasonal variability of essential oils of eugenia uniflora leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 7, p. 1287–1293, 2009.

COSTA, D. P. et al. Influence of Fruit Biotypes on the Chemical Composition and Antifungal Activity of. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 5, p. 851–858, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbchs/v21n5/a12v21n5.pdf>>.

COSTA, W. K. et al. Essential oil from *Eugenia stipitata* McVaugh leaves has antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities without showing toxicity in mice. **Industrial Crops and Products**, v. 144, n. August 2019, p. 112059, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112059>>.

DA COSTA, J. S. et al. Seasonal and antioxidant evaluation of essential oil from *Eugenia uniflora* L., curzerene-rich, thermally produced in situ. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, 1 fev. 2020.

DA SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. C. B. Reproductive success of four species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 2, p. 526–534, 2009.

DA SILVA DE SOUZA, T. et al. Essential oil of *Psidium guajava*: Influence of genotypes and environment. **Scientia Horticulturae**, v. 216, p. 38–44, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.026>>.

DE ASSIS, A. L. A. et al. Effect of drying method and storage conditions on the essential oil yield and composition of *Eugenia uniflora* L. leaves. **Revista Colombiana de Ciencias Horticolas**, v. 14, n. 2, p. 275–282, 2020.

DELWING, A. B. et al. A Etnobotânica como ferramenta da validação do conhecimento tradicional: manutenção e resgate dos recursos genéticos. **Congresso Brasileiro de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 421–425, 2007.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products - A biosynthetic approach**. 3<sup>a</sup> edição ed. [s.l.: s.n.]

DINIZ, M. E. R.; BUSCHINI, M. L. T. Diversity of flower visiting bees of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) in fragments of Atlantic Forest in South Brazil. **Sociobiology**, v. 63, n. 3, p. 982–990, 2016.

DONADIO, L.C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal: Ed. Novos Talentos, 2002. 288p.

DOS SANTOS, F. R. Estudo comparativo dos óleos essenciais de espécies da família myrtaceae através do perfil cromatográfico, análise multivariada e atividades biológicas. **Universidade Federal Rural do Rio Janeiro**. 2016.

DOS SANTOS, J. F. S. et al. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chemistry**, v. 261, p. 233–239, 30 set. 2018.

DOS SANTOS PEREIRA, E. et al. *Eugenia uniflora* L. fruit: A review on its Chemical Composition and Bioactivity. **The Natural Products Journal**, v. 12, n. 2, p. 42–59, 2021.

FERREIRA-RAMOS, R. et al. Genetic diversity assessment for *Eugenia uniflora* L., *E. pyriformis* Cambess., *E. brasiliensis* Lam. and *E. francavilleana* O. Berg neotropical tree species (Myrtaceae) with heterologous SSR markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 61, n. 1, p. 267–272, 2014.

FERREIRA, M. R. A. et al. In vitro antifungal activity and phytochemical characterization of *Eugenia uniflora*, *Libidibia ferrea* and *Psidium guajava*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, p. 1–9, 2020.

FIDALGO, A. de O. et al. Pollination and quality of seeds and plantlets of *Eugenia uniflora* L. **Hoehnea**, v. 46, n. 1, p. 1–12, 2019.

FIGUEIREDO, P. L. B. et al. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 232, p. 30–38, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.011>>.

FILOMENO, C. A. et al. *Corymbia* spp. and *Eucalyptus* spp. essential oils have insecticidal activity against *Plutella xylostella*. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 374–383, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.033>>.

FIUZA, T. . et al. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* l. (Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. V, n. 2, p. 1–11, 2008. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/5148/4255>>.

FRANZON, R. C. **Propagação de pitangueira via miniestaquia**. 2008. 2008.

- GALLON, C. et al. Chemistry matters: biological activity of Eucalyptus essential oils on mosquito larval mortality. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 168, n. 5, p. 407–415, 2020.
- GARCIA, M. O. et al. Chemical Characterization, Antioxidant, Cytotoxic, and Antibacterial Activities of Eugenia Uniflora L. and Psidium Cattleianum Sabine Essential Oils Against Klebsiella Pneumoniae and Acinetobacter Baumannii / Caracterização Química, Antioxidante, Citotóxica. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 27276–27294, 2021.
- GLAMOČLIJA, J. et al. Chemical characterization of Lippia alba essential oil: An alternative to control green molds. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 1537–1546, 2011.
- GONÇALVES, A. J. et al. Study of seasonality and location effects on the chemical composition of essential oils from Eugenia uniflora leaves. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 15, n. 7, p. 321–329, 2021.
- HAMRICK, J. L. Response of forest trees to global environmental changes. **Forest Ecology and Management**, v. 197, n. 1–3, p. 323–335, 2004.
- HARON, N. W.; MOORE, D. M. The taxonomic significance of leaf micromorphology in the genus Myrtaceae L. (Myrtaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 120, n. 5, p. 265–277, 1996.
- HASIMOTO E SOUZA, L. K. et al. Antifungal properties of Brazilian cerrado plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 247–249, 2002.
- HODEL, D. R.; ARAKELIAN, G.; OHARA, L. M. The bronze bug another new threat to eucalypts in California. **PalmArbor**, v. 5, n. September, p. 1–11, 2016.
- HOSSEIN, M. et al. The effect of drying methods on yield and chemical constituents of the essential oil in Lavandula angustifolia Mill . ( Lamiaceae ). **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 96–103, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40502-019-0438-4>>.
- IRELAND, B. F. et al. Chemical variation in the leaf essential oil of Melaleuca quinquenervia (Cav.) S.T. Blake. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 5, p. 457–470, 2002.
- KELLEY, L. A.; GARDNER, S. P.; SUTCLIFFE, M. J. An automated approach for clustering an ensemble of NMR-derived protein structures into conformationally related subfamilies. **Protein Engineering**, v. 9, n. 11, p. 1063–1065, 1996.
- KHOO, H. E.; AZLAN, A.; TANG, S. T.; LIM, S. M. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food & Nutrition Research**, v. 61, n. 1, p. 1-21, 2017.
- KUSUMA, H. S.; MAHFUD, M. Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (Santalum album) by microwave air-hydrodistillation method. **Alexandria**

**Engineering Journal**, v. 57, n. 2, p. 1163–1172, 2018.

L. FRANZON, R. C. et al. Pitanga *Eugenia uniflora* L. **Exotic Fruits Reference Guide**, p. 333–338, 2018.

LAGO, J. H. G. et al. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of myrtaceae - *Eugenia uniflora* L. and *plinia trunciflora* (O. Berg) kausel. **Molecules**, v. 16, n. 12, p. 9827–9837, 2011.

LATTUADA, D. S. Avanços na propagação vegetativa de *Eugenia uniflora* e *Plinia peruviana*. 2014. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2014.

LIMA, G. A. **Do fetiche à mercadoria: uma análise da ciência e natureza objetivadas nas embalagens da linha EKOS da Natura**. 2011. 2011. Disponível em: <[https://users.med.up.pt/~faru/solos\\_tec\\_descont.htm](https://users.med.up.pt/~faru/solos_tec_descont.htm)>.

MACHADO, A.; MACHADO, C.; NASS, L. **Manejo da diversidade genética e melhoramento participativo de milho em sistemas agroecológicos**. Revista Brasileira de Agroecologia, 2011.

MACHADO, L. de O. **Análise comparativa do genoma plastidial de Myrtaceae: *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret, *Eugenia uniflora* L., *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O.Berg, *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel, *Plinia aureana* (Mattos) Mattos e *Plinia* sp.** Universidade Federal de Santa Catarina. p. 197, 2017.

MARQUES, J. S. **Compostos ativos de folhas de eugenia uniflora e seus efeitos contra mofo branco causado por sclerotinia sclerotiorum em plantas de feijoeiro**. Instituto de Ciências Biológicas - UFG, p. 1–96, 2014.

MÁTHÉ, Á.; BANDONI, A. **Medicinal and Aromatic Plants of South America Vol. 2**. [s.l.: s.n.].v. 7

MAZARO, S. M. et al. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciencia Rural**, v. 38, n. 7, p. 1824–1829, 2008.

MAZINE, F. F. et al. A preliminary phylogenetic analysis of *Eugenia* (Myrtaceae: Myrteae), with a focus on Neotropical species. **Kew Bulletin**, v. 69, n. 2, p. 1–14, 2014.

MAZINE, F. F. et al. Phylogeny and biogeography of the hyper-diverse genus *eugenia* (Myrtaceae: Myrteae), with emphasis on *E. sect. umbellatae*, the most unmanageable clade. **Taxon**, v. 67, n. 4, p. 752–769, 1 ago. 2018.

MEDEIROS, J. R. et al. Composition of the bioactive essential oils from the leaves of *eugenia stipitata* mcvaugh ssp. *sororia* from the azores. **Journal of Essential Oil Research**, v. 15, n. 4, p. 293–295, 2003.

MEGAWATI et al. Kinetics of mace (*Myristicae arillus*) essential oil extraction using microwave assisted hydrodistillation: Effect of microwave power. **Industrial Crops and Products**, v. 131, n. September 2018, p. 315–322, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.067>>.

MELO, R. M. et al. Identification of Impact Aroma Compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) Leaf Essential Oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 18, n. 1, p. 179–183, 2007.

MOHAMED, S. et al. Chemical Profile, Anti-inflammatory, and Antimicrobial Activities of The Essential Oil and Lipoidal Matter Obtained from Two *Eugenia* species Cultivated in Egypt. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 66, n. 13, p. 849–859, 2023.

NASCIMENTO, R. V. et al. Hydrodistillation Extraction Kinetics of Volatile Oils from *Varronia curassavica* and *Laurus nobilis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, n. 4, p. 503–509, 2020.

OGUNWANDE, I. A. et al. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **International Journal of Aromatherapy**, v. 15, n. 3, p. 147–152, 2005.

PELACANI, M. G. do N. et al. Biologia floral da pitangueira (*Eugenia uniflora* L., Myrtaceae). **Revista das Faculdades de Educação, Ciências e Letras e Psicologia Padre Anchieta**, v. 2, n. 4, p. 17–20, 2000.

PENG, T. Y.; DON, M. M.; TAHREL, M. A. Optimisation and kinetics studies on the extraction of essential oil from *Zingiber cassumunar*. **Journal of Physical Science**, v. 23, n. 1, p. 65–82, 2012.

PERIAGO, M. J.; MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; ROS, G. Propiedades químicas , biológicas y valor nutritivo del licopeno. **Anales de Veterinaria de Murcia**. n. January, 2001.

RAJESWARA RAO, B. R.; RAJPUT, D. K.; PATEL, R. P. Essential oil profiles of different parts of palmarosa (*cymbopogon martinii* (roxb.) wats. var. motia burk.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 6, p. 519–521, 2009.

RODRIGUES, K. A. D. F. et al. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-leishmania agent: Effects on leishmania amazonensis and possible mechanisms of action. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

ROLIM, R. G. et al. Flora da bacia do rio Pelotas: uso e conservação de espécies. **UFRGS**, n. July, p. 165, 2016.

ROMAGNOLO, M. B.; DE SOUZA, M. C. O gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície de alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 3, p. 529–548, 2006.

SÁ, R. D.; SANTANA, A. S. C. de O.; RANDAU, K. P. Caracterização anatômica e histoquímica das folhas de *Eugenia uniflora* L. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 1, n. 1, p. 96–105, 2016.

SALGUEIRO, F. et al. Even population differentiation for maternal and biparental gene markers in *Eugenia uniflora*, a widely distributed species from the Brazilian coastal

- Atlantic rain forest. **Diversity and Distributions**, v. 10, n. 3, p. 201–210, 2004.
- SANTOS, F. R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R. N. Influence of age of the leaves of *E. uniflora* L. on chemical composition of essential oil. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 762–768, 2015.
- SATYAL, P. et al. Chemotypic characterization and biological activity of *rosmarinus officinalis*. **Foods**, v. 6, n. 3, p. 1–15, 2017.
- SEBBENN, A. M.; ETTORI, L. C. Conservação genética ex situ de *Esenbeckia leiocarpa*, *Myracrodruon urundeuva* e *Peltophorum dubium* em teste de progênes misto. **Revista do Instituto Florestal**, v. 13, n. 2, p. 201–211, 2001. Disponível em: <[http://www.iflorestal.sp.gov.br/RIF/RevistaIF/RIF13-2/RIF13-2\\_201-211.pdf](http://www.iflorestal.sp.gov.br/RIF/RevistaIF/RIF13-2/RIF13-2_201-211.pdf)>.
- SEMERDJIEVA, I. B. et al. Hydrodistillation Extraction Kinetics Regression Models for Essential Oil Yield and Composition in *Juniperus virginiana*, *J. Excelsa*, and *J. Sabina*. **Molecules**, v. 24, n. 5, 2019.
- SIEBERT, D. A. et al. Evaluation of seasonal chemical composition, antibacterial, antioxidant and anticholinesterase activity of essential oil from *Eugenia brasiliensis* Lam. **Natural Product Research**, v. 29, n. 3, p. 289–292, 2015.
- SILOU, T. et al. Intra and interspecific variations of yield and chemical composition of essential oils from five eucalyptus species growing in the congo-brazzaville. *Corymbia* subgenus. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 3, p. 203–211, 2009.
- SILVA, A. L. G. da; PINHEIRO, M. C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 1, p. 235–247, 2007.
- SILVA, L. D. C. et al. Overview of antifungal drugs against paracoccidioidomycosis: How do we start, where are we, and where are we going? **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 1–21, 2020.
- SILVA, S. de M. Pitanga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 159, 2010. Disponível em: <[file:///D:/Documentos/Lucas Xavier/LBT/Artigos/Serrano & Cattaneo 2010.pdf](file:///D:/Documentos/Lucas%20Xavier/LBT/Artigos/Serrano%20&%20Cattaneo%202010.pdf)>.
- SOBEH, M. et al. Chemical Profiling of the Essential Oils of *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* and *Eugenia uniflora* and Their Discrimination Using Chemometric Analysis. **Chemistry and Biodiversity**, v. 13, n. 11, p. 1537–1550, 2016.
- SOUZA, G. K. et al. Social Wasps on *Eugenia uniflora* Linnaeus (Myrtaceae) Plants in the Urban Area of Viçosa, Minas Gerais State, Brazil. **Sociobiology**, v. 60, n. 2, p. 204–209, 2013.
- STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: Chemical diversity and biological properties. **Chemistry and Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73–94, 2011.

SZKOPÍŃSKA, A.; PŁOCHOCKA, D. Farnesyl diphosphate synthase; regulation of product specificity. **Acta Biochimica Polonica**, v. 52, n. 1, p. 45–55, 2005.

TYLER, V. E. Phytochemicals: Back to the future. **Journal of natural products**, v. 62, n. 11, p. 1589–1592, 1999.

UCHECHUKWU, R.; JAMILA HUSSEINI, S.; ASUQUO, S. Proximate and phytochemical analysis of leaf, stem and root of *Eugenia uniflora* (Surinam or Pitanga cherry). **Journal of Natural Product and Plant Resources**, v. 1, n. 4, p. 1–4, 2011. Disponível em: <<http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>>.

UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos**. [s.l: s.n.]

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, n. C, p. 463–471, 1963.

VÁSQUEZ, S. P. F.; DE MENDONÇA, M. S.; NODA, S. do N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 4, p. 457–472, 2014.

VERMA, R. S. et al. Essential Oil Composition of Menthol Mint ( *Mentha arvensis* ) and Peppermint ( *Mentha piperita* ) Cultivars at Different Stages of Plant Growth from Kumaon Region of Western Himalaya. **Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 1, n. 1, p. 13–18, 2010.

WILSON, P. G. Myrtaceae. In: **The Families and Genera of Vascular Plants, Flowering Plants - Eudicots Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae**. [s.l: s.n.]p. 212–271.

## 8. APÊNDICES

**Apêndice 1.** Tabela de componentes químicos elucidados em diferentes intervalos de tempo na cinética de extração do óleo essencial de *Eugenia uniflora*.

Substâncias	Classe	TR	IRLc	IRLt	Intervalo de tempo (h)				
					0 - 0,5	0,5 - 1	1 - 2	2 - 4	4 - 6
					----- Area relativa (%) -----				
Ocimeno <(Z)-β->	MH	13,647	1049	1032	1,9	-	-	-	-
Octanoato de metila		17,603	1129	1123	-	-	-	-	-
Elemeno <δ->	SH	27,14	1335	1335	3,92	1,12	1,12	1,49	1,98
Elemeno <β->	SH	29,488	1391	1389	8,06	7,91	7,93	7,8	7,31
Cariofileno <(E)->	SH	30,561	1420	1417	4,09	3,92	4,4	5,38	6,18
Elemeno <γ->	SH	30,99	1433	1434	2,89	1,42	1,56	1,89	2,11
Germacreno D	SH	32,704	1484	1480	4,19	3,96	3,72	2,71	1,07
Viridifloreno	SH	33,038	1494	1496	-	-	-	-	3,42

NI		33,045	1494		-	1	-	-	-
Bicyclogermacreno	SH	33,199	1499	1500	0,63	1,11	1,46	2,27	-
Curzereno	SO	33,198	1499	1499	41,13	46,52	42,85	33,33	22,45
Germacreno A	SH	33,252	1500	1508	0,53	2,59	0,43	0,93	-
NI		33,708	1517		2,73	-	-	-	-
Cadineno < $\delta$ ->	SH	33,876	1523	1522	-	-	-	7,48	1,79
NI		34,409	1542		-	-	-	-	0,25
Germacreno B	SH	35,063	1565	1559	6,62	3,28	7,38	0,75	0,68
Espatulenol	SO	35,059	1565	1577	1,6	3,23	1,29	1,28	2,25
Globulol	SO	35,671	1587	1590	0,26	1,07	1,19	1,58	5,35
Ledol	SO	35,758	1590	1602	0,85	0,65	0,98	1,49	1,22
Himachalol	SO	35,89	1595	1652	0,43	1,34	1,14	0,35	-
NI		35,947	1597		0,3	-	-	0,63	-
NI		36,126	1604		0,15	-	-	1,54	0,63
Cadinol < $\alpha$ ->	SO	37,685	1667	1652	-	1,23	3,2	3,66	1,88
Isobornil isobutanoato <8-hydroxy->	SO	37,048	1641	1674	0,5	0,94	0,54	0,57	3,49
Furanodieno *	SO	37,801	1672	1666	0,42	0,74	0,34	0,4	3,13
NI		39,601	1751		-	0,48	-	-	2,44
Khusinol acetato	SO	38,657	1707	1823	0,45	1,31	1,69	3,17	4,48
NI		41,419	1834		-	-	-	-	0,96
NI		41,425	1834		-	-	-	-	0,29
NI		42,432	1883		4,65	11,57	9,04	-	2,33
NI		42,949	1908		10,31	6,48	-	6,12	4,02
NI		44,794	2003		2,89	0,57	8,88	13,61	18,31
NI		44,961	2012		-	-	0,82	1,34	2
Hidrocarbonetos de monoterpenos					1,9	-	-	-	-
Monoterpenos oxigenados					-	-	-	-	-
Monoterpenos totais					1,9	-	-	-	-
Hidrocarbonetos de sesquiterpenos					30,94	25,3	28,02	30,7	24,54
Sesquiterpenos oxigenados					45,64	57,02	53,23	45,83	44,24
Sesquiterpenos totais					76,58	82,32	81,25	76,53	68,78
Não identificados (NI)					21,52	17,68	18,75	23,24	28,78

CL: Classe química; TR: Tempo de retenção; IRLc: Índice de retenção linear calculado; IRLt: Índice de retenção linear tabelado; MH: Monoterpeno hidrocarboneto; SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto; SO: Sesquiterpeno oxigenado.

**Apêndice 2.** Tabela de componentes químicos elucidados nos óleos essenciais dos 20 espécimes coletados *in situ*.

Substâncias		TR	IRLc	IRLt	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
----- Área relativa (%) -----																								
Myrceno	MH	10,9	992	988	-	2,6	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	0,9	0,3	-	-	-	0,7	-
Linalool	MO	16,5	1107	1095	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	0,5	-	1,8	1,0	-	-	0,8	-	-
Cymeno <ρ->	MH	12,6	1028	1020	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ocimeno <(E)-β->	MH	13,7	1050	1032	-	1,5	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	1,1	-	-	0,5	-	-	-	-	-
Octanoato de metila		17,7	1131	1123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patchenol <(E)->	MO	27,0	1331	1328	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	-	2,3	-	-	-	3,3
NI		27,9	1354		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3
NI		28,9	1377		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-	-	1,3
Elemeno <β->	SH	29,6	1392	1389	6,1	7,4	5,9	2,4	-	3,1	2,1	1,6	2,5	2,2	2,8	1,9	2,2	-	2,3	1,5	2,8	1,9	3,7	-
Cariofileno <(E)->	SH	30,6	1422	1417	7,6	7,9	-	-	3,6	1,9	-	0,7	1,7	1,6	2,6	1,2	0,6	2,3	1,3	-	-	2,8	1,8	8,3
Elemeno <γ->	SH	31,1	1435	1434	-	1,5	5,9	0,7	-	2,2	0,6	0,5	0,6	0,8	1,0	0,8	1,3	-	0,8	-	0,8	1,3	0,9	-
Cariofileno <9-epi-(E)->	SH	32,1	1465	1464	-	-	4,1	-	1,1	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aromadendreno <allo->	SH	32,0	1464	1458	-	-	2,4	-	13,8	1,7	0,5	-	-	-	-	-	-	1,4	-	9,5	-	0,7	-	17,0
Aromadendreno	SH	32,1	1465	1439	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno D	SH	32,8	1486	1480	-	4,2	-	1,2	-	0,7	0,9	-	1,0	0,4	1,9	1,7	1,7	-	1,4	2,0	1,6	0,5	1,8	-
Bulneseno <α->	SH	33,0	1492	1509	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Selineno <β->	SH	33,0	1493	1489	-	3,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ledeno	SH	33,1	1495	1496	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bulneseno <α->	SH	33,1	1495	1509	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Viridifloreno	SH	33,1	1496	1496	-	-	-	1,3	-	1,4	1,1	-	-	1,0	1,5	1,4	-	-	0,8	-	-	2,2	1,1	-
Bicyclogermacreno	SH	33,2	1500	1500	-	-	-	3,1	-	2,1	1,9	0,4	0,9	1,0	4,1	6,4	2,3	-	2,1	-	0,8	5,1	-	-
Curzereno	SO	33,3	1503	1499	34,3	27,8	59,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25,1	-	-
Amorpheno <α->	SH	33,4	1504	1484	-	-	-	-	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3	-	-	-	1,3	-	-
Bisaboleno <(E)-iso-γ->	SH	33,6	1512	1528	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Continuação ...																								
Muuroleno < $\alpha$ ->	SH	33,8	1518	1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,2	-	1,9	-	-	-	1,3
Amorpheno < $\gamma$ ->	SH	33,8	1519	1495	-	-	-	-	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	-	-	-	-	-	-
Cadineno < $\delta$ ->	SH	33,9	1524	1522	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,3	-	4,0	-	-	-	-
Amorpheno < $\delta$ ->	SH	34,0	1525	1511	-	-	-	-	10,7	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	4,0
NI		34,2	1533		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-	-	-	-	-	2,0
Germacreno A	SH	35,1	1567	1508	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	1,9	8,3	-	-	-	0,3	-	1,6	-	-	-
Germacreno B	SH	35,1	1567	1559	8,0	19,7	7,9	4,6	-	4,4	5,6	0,8	5,3	6,6	0,8	6,1	13,7	-	5,9	-	6,0	4,3	6,8	-
NI		35,5	1580		-	-	-	-	-	1,6	-	-	-	-	-	-	-	2,9	-	3,9	-	0,7	-	-
NI		35,7	1588		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,6	-
Espatulol	SO	35,8	1590	1577	6,3	2,0	4,9	1,1	20,6	0,9	3,2	4,1	0,4	3,0	-	1,1	0,5	15,1	0,5	15,0	0,5	1,5	0,8	30,3
Oxido de cariofileno	SO	35,8	1592	1582	-	1,6	-	-	6,0	-	-	3,7	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	0,4	5,2
Globulol	SO	36,0	1597	1590	-	1,6	3,8	0,8	-	1,3	-	0,5	-	-	-	-	-	0,4	-	-	0,6	-	-	
Viridiflorol	SO	36,2	1607	1592	-	-	-	0,8	-	0,7	0,4	-	-	-	0,9	1,2	-	-	-	-	-	-	-	
Ledol	SO	36,2	1606	1602	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	1,0	-	-	-	-	-	1,3	-	-
NI		36,2	1606	1590	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	0,8	-
Copaen-4- $\alpha$ -ol < $\beta$ ->	SO	37,0	1638	1590	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,9	-	10,6	-	-	-	5,0
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	SO	37,1	1643	1632	11,6	-	-	47,4	4,04	42,4	34,8	43,6	51,7	36,5	43,5	36,9	45,2	7,1	40,9	14,2	38,2	29,7	37,7	-
Aromadendreno epoxido <allo->	SO	37,2	1648	1639	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	2,3
NI		37,2	1649		-	-	-	-	1,1	-	0,5	0,5	-	0,6	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-
Cadinol <epi- $\alpha$ ->	SO	37,4	1657	1638	-	-	-	-	4,4	-	-	-	-	-	-	-	-	4,0	-	1,8	-	-	-	-
Muurolol <epi- $\alpha$ ->	SO	37,5	1660	1640	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	4,0
NI		37,5	1661		-	-	-	-	4,4	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-
Cadinol < $\alpha$ ->	SO	37,8	1672	1652	-	-	-	-	9,2	-	-	-	-	-	-	-	-	14,0	-	5,8	-	-	-	4,4
Selin-11-en-4- $\alpha$ -ol	SO	37,9	1674	1658	-	-	-	-	-	-	0,4	0,5	0,5	-	-	0,3	-	-	0,5	-	0,4	-	-	-
Mayurona	SO	37,9	1675	1703	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Atractylona	SO	37,9	1675	1657	-	-	7,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	-
NI		37,9	1674		-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	5,6	-	-	-	-	-	-

Continuação ...																								
Khusinol	SO	37,9	1676	1679	-	-	-	-	4,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		38,3	1690		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5	-	-	0,8	0,6	-	-
Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- $\alpha$ -ol	SO	38,3	1691	1685	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		38,3	1691		-	-	-	-	-	-	0,6	0,6	0,5	0,3	-	0,5	0,4	-	0,6	-	-	-	-	-
Amorpha-4,9-dien-2-ol	SO	38,5	1699	1700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		38,5	1700		-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
furanodieno*	SO	38,7	1710	1699	3,6	4,9	5,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	-
Germacrona	SO	38,7	1711	1693	-	-	-	-	-	-	0,3	1,5	0,5	0,3	-	-	0,8	-	0,3	-	-	-	-	-
NI		39,1	1726		-	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-
NI		39,2	1731		-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	0,4	-	-	-	-	0,3	3,7	-	-	-	-
NI		39,2	1733		-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bisabolenal < $\beta$ ->	SO	39,9	1765	1768	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Selina-1,3,7(11)-trien-8-one epoxido	SO	39,9	1763	1746	22,5	-	-	35,4	3,8	32,9	44,7	39,4	33,2	42,1	31,7	37,2	30,9	4,3	39,7	14,1	46,1	43,5	12,6	1,4
NI		40,4	1786		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		40,5	1789		-	-	-	-	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	3,6	-	3,9	-	-	-	-
NI		40,9	1809		-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		42,0	1861		-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	0,5	-	0,3	0,4	-	-	-	-	-	-	-
Khusinol acetato	SO	42,5	1885	1823	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		40,5	1902		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,8
NI		43,0	1912		-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		43,0	1911		-	5,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0
NI		44,9	2006		-	4,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		44,9	2008		-	-	-	1,0	-	0,9	0,4	0,6	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI		42,0	2060		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-
NI		46,5	2095		-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,3	-	-	-	-
Hidrocarbonetos de monoterpenos					-	6,1	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	1,1	-	0,9	0,8	-	-	-	0,7	-
Monoterpenos oxigenados					-	-	-	-	2,5	-	-	-	0,5	-	-	0,5	-	1,8	1,0	2,3	-	0,8	-	3,3

Continuação ...																				
Monoterpenos totais	-	6,1	-	-	2,5	-	0,9	-	0,5	-	-	1,6	-	2,8	1,8	2,3	-	0,8	0,7	3,3
Hidrocarbonetos de sesquiterpenos	21,7	42,7	26,5	13,2	32,6	15,4	12,7	4,7	12,0	8,2	23,0	19,9	21,8	27,8	6,6	19,0	13,6	20,9	9,2	30,6
Sesquiterpenos oxigenados	78,3	40,2	73,5	85,9	48,8	80,2	83,8	93,1	86,4	89,6	77,0	77,7	77,3	46,2	90,0	64,9	85,3	76,6	85,4	52,6
Sesquiterpenos totais	100,0	82,9	100	99,1	81,5	95,7	96,5	97,9	98,4	97,8	100,0	97,5	99,1	74,0	96,6	83,9	98,9	97,5	94,5	83,2
Não identificados (NI)	-	10,0	-	1,0	16,1	4,3	2,6	2,1	1,1	2,1	-	0,9	0,8	23,2	1,3	13,9	1,2	1,7	4,8	13,0

CL: Classe química; TR: Tempo de retenção; IRLc: Índice de retenção linear calculado; IRLt: Índice de retenção linear tabelado; MH: Monoterpeno hidrocarboneto; MO: Monoterpeno oxigenado; SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto; SO: Sesquiterpeno oxigenado.

### Apêndice 3. Autorização de pesquisa científica em Unidade de Conservação - INEA.

29/06/2021

SEVERJ - 18876019 - Ofício - NI



Governo do Estado do Rio de Janeiro

Instituto Estadual do Ambiente

Diretoria de Biodiversidade Áreas Protegidas e Ecossistemas

#### **AUTORIZAÇÃO DE PESQUISA CIENTÍFICA EM UNIDADE DE CONSERVAÇÃO INEA Nº 023/2021**

O Diretor de Biodiversidade, Áreas Protegidas e Ecossistemas do Instituto Estadual do Ambiente – INEA, no uso de suas atribuições legais, considerando a Portaria IEF/RJ/PR nº 227 de 18/12/2007 e considerando, ainda, o que consta no procedimento administrativo SEI-070002/003729/2021, **AUTORIZA** o pesquisador **EDUARDO BARROS DUARTE JUNIOR**, vinculado à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e sua equipe Elisabeth Alves Duarte Pereira, Lucas Medeiros Fagundes, Paulo Ricardo de Souza Faria, Rayssa Vicente Nascimento, Sandra Gomes do Nascimento, Thayná Ferreira Guedes, Ygor Nunes Moreira, Marco Andre Alves de Souza, Rafael Torre, Lucas Oliveira de Souza, a obter dados no Parque Estadual da Costa do Sol (PECS), Parque Estadual Cunhambebe (PEC), Parque Estadual da Ilha Grande (PEIG), Parque Estadual da Lagoa do Açú (PELAG), Parque Estadual da Pedra Branca (PEPB), Parque Estadual da Pedra Selada (PEPS), Parque Estadual da Serra da Concórdia (PESC), Parque Estadual da Serra da Tiririca (PESET), Parque Estadual do Desengano (PED), Parque Estadual Mendanha (PEM), Parque Estadual dos Três Picos (PETP), Refúgio de Vida Silvestre Estadual da Serra da Estrela (REVISSEST), Refúgio de Vida Silvestre Estadual do Médio Paraíba (REVISMEP), Refúgio de Vida Silvestre Estadual Lagoa da Turfeira (REVISTUR), Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG), Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul (RBPS), Reserva Biológica Estadual de Araras (RBA), Reserva Ecológica Estadual da Juatinga (REEJ), Reserva Biológica Estadual de Guaratiba (RBG), APA de Mangaratiba (APAMAN), APA de Gericinó-Mendanha (APAGM), APA da Bacia do Rio Macacu (APABM), APA da Serra de Sapetiba (APASES), APA de Maricá (APAMAR), APA de Massambaba (APAMAS), APA de Tamoios (APATAM), APA do Alto Iguaçu (APAIGU), APA do Pau-Brasil (APAPBR), APA do Rio Guandu (APAGDU), APA de Sepetiba II (APASEP), Floresta Estadual José Zago (FLOEJZ), Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Aventureiro (RDSAVENT), Reserva Extrativista Marinha de Itaipu (RESEXMAR), com vistas à execução do projeto de pesquisa **“Abordagem Multidisciplinar para o Estudo da Pitangueira em Fragmentos da Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro: Prospecção, Conservação, Exploração e Aplicações Biotecnológicas”**, devendo ser observadas as condições discriminadas neste documento e ainda aquelas previstas na Portaria supracitada.

A presente autorização tem validade de **02 (dois) anos** a partir da data de sua assinatura.

#### **Condicionantes desta autorização:**

##### **1. O pesquisador fica autorizado a:**

a) Coletar até 05 (cinco) ramos férteis e inférteis por indivíduo de *Eugenia uniflora*, utilizando tesoura de poda,

b) Coletar até 10 (dez) frutos/sementes por indivíduo de *Eugenia uniflora*.

2. O pesquisador deverá remover todas as marcações e equipamentos das áreas de estudo ao final da pesquisa, sendo sugerida a identificação de todo material deixado na unidade, enquanto o trabalho durar, com o nome da instituição responsável pelo trabalho e o número da Autorização de Pesquisa do INEA.

3. Esta Autorização não autoriza a coleta de espécies constantes nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção, nem isenta o pesquisador da necessidade de solicitar outras anuências, no que couber, para a realização das atividades em tela, inclusive a anuência do responsável pela área, pública ou privada, onde serão realizadas as atividades.

4. Caso seja identificada em campo alguma espécie ameaçada de extinção ou exótica invasora, o INEA deverá ser informado o mais breve possível.

5. Imagens que sejam eventualmente capturadas durante a realização das pesquisas dentro das Unidades de Conservação, poderão ser utilizadas apenas para fins científicos, educativos, culturais ou jornalísticos. Caso haja a intenção de comercializá-las ou utilizá-las (total ou parcialmente) para fins lucrativos será necessário solicitar autorização, de acordo com o previsto no Decreto Estadual nº 36.930/2005.

6. O pesquisador deverá entrar em contato com a administração da(s) UC(s) para agendar as atividades de campo e conhecer as normas de uso da(s) mesma(s), pelos contatos:

EEEG: 98596-5188 ; [eeeg.sfi@gmail.com](mailto:eeeg.sfi@gmail.com)  
 PEIG, RDS, RBPS: 24-3361-5540/ 24- 3361-5800 ; [secretaria.peig@gmail.com](mailto:secretaria.peig@gmail.com),  
 PEPB: 3347-1786/ 2333-6608 ; [pepb.inea@gmail.com](mailto:pepb.inea@gmail.com)  
 PESB: (24) 24715250, 3371-5052 ; [pesb.sopublico@gmail.com](mailto:pesb.sopublico@gmail.com)  
 PESET: (21) 2638-4411 ; [administrador@parqueserradatiirica.org](mailto:administrador@parqueserradatiirica.org)  
 PEC: (21) 3789-2965, 3789-2292 ; [pecunhambebe.inea@gmail.com](mailto:pecunhambebe.inea@gmail.com)  
 PED: (22) 2561- 1378 ; [ped.inea@gmail.com](mailto:ped.inea@gmail.com)  
 PETP: 2649-6847 ; [inea.petp@gmail.com](mailto:inea.petp@gmail.com) ; [pesquisapetp@gmail.com](mailto:pesquisapetp@gmail.com)  
 PELAG: (22) 2747-5316 ; [pelag.inea@gmail.com](mailto:pelag.inea@gmail.com)  
 PEPS: (24)3387- 2318 ; [pepedraseladarj@gmail.com](mailto:pepedraseladarj@gmail.com)  
 PECS: (22)2647-3466 ; [parqueestadualdacostadosol@gmail.com](mailto:parqueestadualdacostadosol@gmail.com)  
 PEM: 3765-2228  
 RBG: 2333-6984 [rbg.inea.adm@gmail.com](mailto:rbg.inea.adm@gmail.com) ; [rbguaratiba@gmail.com](mailto:rbguaratiba@gmail.com) ; [rbg.inea.bio@gmail.com](mailto:rbg.inea.bio@gmail.com)  
 REEF: (24)3371-9654 ; [reservajuatinga@gmail.com](mailto:reservajuatinga@gmail.com)  
 RBA: (24)2225-1749 , (24)2225-1975 , (24)2225-1380, (24)2225-2910 ; [rebioararas.inea.rj@gmail.com](mailto:rebioararas.inea.rj@gmail.com)  
 APABM: (21)2649-5603 ; [apamacacu@gmail.com](mailto:apamacacu@gmail.com)  
 APAMAR: (21)2638-4411 ; [apamarica@gmail.com](mailto:apamarica@gmail.com)  
 RESEX: (21) 2638-4411 ; [resexmarinhadeitaipu@gmail.com](mailto:resexmarinhadeitaipu@gmail.com)  
 APAGM: 2332-5515 / APAMC: (22)2542-9530 ; [apamacaedecima@gmail.com](mailto:apamacaedecima@gmail.com) ; [contatoapamc@gmail.com](mailto:contatoapamc@gmail.com)  
 APAMAN: (21) 3789-2292 ; [apaman.inea@gmail.com](mailto:apaman.inea@gmail.com)  
 APAGDU: 98598-9836 , 96957-9600 ; [apaguandu@gmail.com](mailto:apaguandu@gmail.com)  
 APAMAS: (22)2661-2720 ; (22)2661-4880 / [apamassambaba@yahoo.com.br](mailto:apamassambaba@yahoo.com.br)  
 APABR: 22-2661-2720 , 22-2661-4880 ; [apadopabrazil@gmail.com](mailto:apadopabrazil@gmail.com)  
 APASES: 22-2661-2720 , 22-2661-4880 ; [apasapiatiba@gmail.com](mailto:apasapiatiba@gmail.com)  
 APATAM: (24) 3367-2330 ; [apatamoios@gmail.com](mailto:apatamoios@gmail.com)  
 APAIGU: 99997-2279 ; [apaaltoiguacu.inea@gmail.com](mailto:apaaltoiguacu.inea@gmail.com)  
 REVISMEP: (24)99849-1316 ; (21) 96958-4333 ; [revismep.inea@gmail.com](mailto:revismep.inea@gmail.com)  
 REVISTUR: 99995-0414 ; [revistur.inea@gmail.com](mailto:revistur.inea@gmail.com)  
 REVISEST: (24)2225-9210 ; [revisest.inea@gmail.com](mailto:revisest.inea@gmail.com)  
 MONASBEL: (21)98596-5178 ; (24)99848- 1754 ; [jeancarvalho.inea@gmail.com](mailto:jeancarvalho.inea@gmail.com) - MONAMASC  
 PANAMAC: [panamac.inea@gmail.com](mailto:panamac.inea@gmail.com)  
 FLOEJZ: (22)2564-2390 ; [flojosezago@gmail.com](mailto:flojosezago@gmail.com)

7. O pesquisador deverá apresentar ao INEA relatórios semestrais e final da atividade de pesquisa, bem como cópia digital das publicações e de qualquer outro material produzido relativo ao trabalho de pesquisa na(s) referida(s) unidade(s) de conservação, conforme disposto na Portaria IEF/RJ/PR 227/2007, não podendo a entrega do relatório final ultrapassar 03 (três) meses após o término da pesquisa.

8. Os relatórios de atividades deverão contemplar, no mínimo: (a) Lista dos espécimes registrados no menor nível taxonômico possível, incluindo datas e locais de coleta/observação georreferenciados (coordenadas e *Datum*); (b) Resultados e discussão das análises propostas no estudo; (c) Sugestões e ameaças observadas ao ecossistema, caso pertinente.

9. O pesquisador deverá citar o(s) nome(s) da(s) unidade(s) de conservação estudada(s) em todos os produtos decorrentes deste trabalho.

10. O pesquisador deverá fazer uma apresentação anual sobre sua pesquisa ao(s) Conselho(s) Gestor(es) da(s) unidade(s) em que estiver trabalhando, enquanto a pesquisa durar.

11. O pesquisador deverá dar entrada no pedido de renovação da Autorização de Pesquisa 30 (trinta) dias antes de seu término, caso necessite dar continuidade à pesquisa.

12. Fica o pesquisador comprometido a apresentar a Autorização de Pesquisa acompanhada de um documento de identificação oficial com foto do(s) membro(s) da equipe presente(s), quando estiver em trabalho de campo dentro da(s) unidade(s) de conservação e for solicitado por servidor do INEA.

13. Fica o pesquisador comprometido a executar exclusivamente o que foi previsto no projeto de pesquisa aprovado pelo INEA, e a comunicar qualquer alteração do projeto antes de sua execução, devidamente justificada, para prévia aprovação.

14. A inobservância das determinações relacionadas, bem como qualquer intervenção não autorizada na(s) unidade(s) de conservação em questão, implicará na suspensão total ou parcial da referida Autorização, e na aplicação de sanções administrativas previstas na Lei 3.467/2000 e na Lei 9.605/1998.

**João Eustáquio Nacif Xavier**

Diretor

Diretoria de Biodiversidade, Áreas Protegidas e Ecossistemas - DIRBAPE

ID. 2028244-3



Documento assinado eletronicamente por **João Eustáquio Nacif Xavier**, Diretor, em 28/06/2021, às 14:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento nos art. 21º e 22º do [Decreto nº 46.730, de 9 de agosto de 2019](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.fazenda.rj.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=6](http://sei.fazenda.rj.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=6), informando o código verificador **18876019** e o código CRC **0C0E7F0C**.

**Referência:** Caso responda este Ofício, indicar expressamente o Processo nº SEI-070002/003729/2021

SEI nº 18876019

Avenida Venezuela,, 110 - Bairro Saúde, Rio de Janeiro/RJ, CEP 20081-312

Telefone:

## Apêndice 4. Autorização de pesquisa científica em Unidade de Conservação - ICMBio



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 78469-1	Data da Emissão: 13/08/2021 21:40:14	Data da Revalidação*: 13/08/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: EDUARDO BARROS DUARTE JUNIOR	CPF: 118.652.047-73
Título do Projeto: Pedido de autorização para realização de estudos com prospecção de pitangueira em unidades de conservação, tanto de uso sustentável, como áreas de proteção no Estado do Rio de Janeiro.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 29.427.465/0001-05

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Reconhecimento de área, mapeamento dos territórios e realização dos trabalhos de prospecção	08/2021	12/2022

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Marco André Alves de Souza	Coordenador do projeto	069.677.697-90	Brasileira
2	Ygor Nunes Moreira	Colaborador	142.472.797-93	Brasileira
3	Thayna Ferreira Guedes	Colaboradora	167.972.237-92	Brasileira
4	Sandra Gomes do Nascimento	Colaboradora	057.975.487-12	Brasileira
5	RAYSSA VICENTE NASCIMENTO	Colaboradora	132.550.167-03	Brasileira
6	Paulo Ricardo De Souza Faria	Colaborador	093.259.229-59	Brasileira
7	Lucas Medeiros Fagundes	Colaborador	157.108.577-77	Brasileira
8	Elisabeth Alves Duarte Pereira	Colaboradora	184.134.067-39	Brasileira
9	Rafael Torre	Colaborador	442.333.398-88	Brasileira
10	Lucas Oliveira de Souza	Colaborador	158.672.567-07	Brasileira

#### Observações e ressalvas

1	O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente.
2	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 100/2010, no que se refere a esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou exportativos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 0784690120210813

Página 1/13

## Apêndice 5. Registros catalogados no herbário do UFRRJ (RBR) dos espécimes coletados *in situ*.

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57586

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Apu. Próximo a construções irregulares, tocos irregulares e processo de urbanização desordenado, local com vasta vegetação de restinga. 22°02'23" S, 40°59'43" W.

Coberto uma área de cerca de 20m<sup>2</sup>, apresentava muitas flores em processo de desenvolvimento, alguns frutos verdes e outros amarelos. Hábito: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Frango

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

24.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057586

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57586

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Apu. Próximo a construções irregulares, tocos irregulares e processo de urbanização desordenado, local com vasta vegetação de restinga. 22°02'23" S, 40°59'43" W.

Coberto uma área de cerca de 20m<sup>2</sup>, apresentava muitas flores em processo de desenvolvimento, alguns frutos verdes e outros amarelos. Hábito: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Frango

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

24.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057586

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57581

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Área de Relevante Interesse Ecológico de Iguapeva. Local com vegetação nativa de restinga bem conservada e sem influência antrópica. 22°29'29" S, 41°53'51" W.

Região de fútil sendo visitada por insetos, não apresentava flores. Altura: 1,2 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Frango

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057581

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57581

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Área de Relevante Interesse Ecológico de Iguapeva. Local com vegetação nativa de restinga bem conservada e sem influência antrópica. 22°29'29" S, 41°53'51" W.

Região de fútil sendo visitada por insetos, não apresentava flores. Altura: 1,2 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Frango

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057581

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57587

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Apu. Próximo a construções irregulares, tocos irregulares e processo de urbanização desordenado, local com algumas áreas abandonadas, vegetação de restinga característica. 22°02'23" S, 40°59'20" W.

Gálhos laterais coberto uma área de cerca de 10m<sup>2</sup>, apresentava muitas flores e poucos frutos verdes e pequenos, folhas pequenas e com a coloração avermelhada, indicativo para a presença de antocianinas, substâncias importantes para a proteção contra radiação luminosa, o espólio também possui áreas de herbivoria. Altura: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

24.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057587

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57587

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Apu. Próximo a construções irregulares, tocos irregulares e processo de urbanização desordenado, local com algumas áreas abandonadas, vegetação de restinga característica. 22°02'23" S, 40°59'20" W.

Gálhos laterais coberto uma área de cerca de 10m<sup>2</sup>, apresentava muitas flores e poucos frutos verdes e pequenos, folhas pequenas e com a coloração avermelhada, indicativo para a presença de antocianinas, substâncias importantes para a proteção contra radiação luminosa, o espólio também possui áreas de herbivoria. Altura: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

24.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057587

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57582

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Macaé, Lagoa de Imbuassica. Ambiente de praia, próximo a praia das pedrinhas e ao lado da lagoa de Imbuassica, Macaé, RJ. Local com vegetação nativa de restinga, com pouca influência antrópica, ambiente com perfis elegantes. 22°26'33" S, 41°48'12" W.

Com uma dependência das áreas laterais coberto uma área de mais de 30m<sup>2</sup>, região de fútil maduro e com algumas flores em fase de desenvolvimento. Várias plantas estavam visitando a planta capturando recursos. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Frango

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057582

 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57582

MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.R. Souza et al. per (M.A.R.) 2022

Brasil, Rio de Janeiro, Macaé, Lagoa de Imbuassica. Ambiente de praia, próximo a praia das pedrinhas e ao lado da lagoa de Imbuassica, Macaé, RJ. Local com vegetação nativa de restinga, com pouca influência antrópica, ambiente com perfis elegantes. 22°26'33" S, 41°48'12" W.

Com uma dependência das áreas laterais coberto uma área de mais de 30m<sup>2</sup>, região de fútil maduro e com algumas flores em fase de desenvolvimento. Várias plantas estavam visitando a planta capturando recursos. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustiva. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Frango

Y.N. Moreira, Z.T. M.A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23.08.2022

Pro: Planta medicinal e aromática nativa, importante, comum e útil de todo o RJ, propagação e desenvolvimento de pais e paisagem.

RBR00057582



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57578

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Avenida Rotary Club, Beira de estrada, área urbanizada com vegetação formando uma mata ciliar com plantas nativas de Mata Atlântica ao lado de um corpo d'água. 22°31'38" S, 41°55'57" W.

Possui muitos frutos verdes, poucos frutos maduros e não apresentava flores. Altura: 3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 23, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057578



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57579

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Praia Virgem, Trilha próxima a praia Virgem em Rio das Ostras, RJ, área característica de restinga com vegetação nativa. 22°32'2" S, 41°55'56" W.

Apresentando muitos frutos maduros e poucos frutos verdes, sem flores. As folhas apresentavam sinais de herbivoria e muitas estavam perforadas por pupas de mariposa. Altura: 1,8 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 24, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057579



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57578

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Avenida Rotary Club, Beira de estrada, área urbanizada com vegetação formando uma mata ciliar com plantas nativas de Mata Atlântica ao lado de um corpo d'água. 22°31'38" S, 41°55'57" W.

Possui muitos frutos verdes, poucos frutos maduros e não apresentava flores. Altura: 3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 23, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057578



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57579

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Praia Virgem, Trilha próxima a praia Virgem em Rio das Ostras, RJ, área característica de restinga com vegetação nativa. 22°32'2" S, 41°55'56" W.

Apresentando muitos frutos maduros e poucos frutos verdes, sem flores. As folhas apresentavam sinais de herbivoria e muitas estavam perforadas por pupas de mariposa. Altura: 1,8 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 24, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057579



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57580

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Lagoa de Iry, Praça da lagoa de Iry, no parque municipal de Iry em Rio das Ostras, RJ. Local urbano com casas comerciais com algumas pequenas áreas com vegetação nativa. 22°30'30" S, 41°54'53" W.

Apresentava poucos frutos em sua maioria maduros sendo visitados por insetos, sem flores. Altura: 3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 23, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057580



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57583

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Macaé, Parque Nacional da Restinga de Jurubatuba, Região com vegetação nativa de restinga bem conservada e sem atividade antrópica próxima. 22°17'52" S, 41°41'12" W.

Com ampla dispersão dos galhos laterais cobrindo uma área de cerca de 8m², apresentava frutos maduros, sem flores e com indícios de herbivoria. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 26, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057583



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57580

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Rio das Ostras, Lagoa de Iry, Praça da lagoa de Iry, no parque municipal de Iry em Rio das Ostras, RJ. Local urbano com casas comerciais com algumas pequenas áreas com vegetação nativa. 22°30'30" S, 41°54'53" W.

Apresentava poucos frutos em sua maioria maduros sendo visitados por insetos, sem flores. Altura: 3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 23, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057580



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57583

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

(Det. M.A.S. Sousa et al. em 23-06-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Macaé, Parque Nacional da Restinga de Jurubatuba, Região com vegetação nativa de restinga bem conservada e sem atividade antrópica próxima. 22°17'52" S, 41°41'12" W.

Com ampla dispersão dos galhos laterais cobrindo uma área de cerca de 8m², apresentava frutos maduros, sem flores e com indícios de herbivoria. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbórea. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Fôrange

Y.N. Moreira, 26, M.A.A. Sousa, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Torres, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Fortes

23-06-2022

Proj. Plantas medicinais e espécies nativas: Inaproveitadas, comensais e raras do Estado do RJ, propagação e diversidade do prod. e tecnologia.



RBR00057583



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57584

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Ilha de Ilha, Parque Nacional da Restinga de Jurubatuba. Em terra de estrada de terra distante da orla da praia, ambiente levemente urbanizado e com construções irregulares. 22°17'28" S, 47°42'30" W.

Aparentes muitas folhas maduras e muitas inflorescências em início de formação de frutos, as folhas eram pequenas, demonstrando um hipocótilo de espécie. Altura: 4 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, S.M. A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Farias

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57584

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Ilha de Ilha, Parque Nacional da Restinga de Jurubatuba. Em terra de estrada de terra distante da orla da praia, ambiente levemente urbanizado e com construções irregulares. 22°17'28" S, 47°42'30" W.

Aparentes muitas folhas maduras e muitas inflorescências em início de formação de frutos, as folhas eram pequenas, demonstrando um hipocótilo de espécie. Altura: 4 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, S.M. A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Farias

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57972

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Ilha de Ilha, Praia da Lagoa Doce. Beira de estrada de terra, próxima a praia da Lagoa Doce, ambiente de restinga, área natural conservada e sem influência antrópica. 21°19'28" S, 40°57'54" W. Planta com hábito arbustivo de porte pequeno, altura de 1,6m e galhos laterais cobertos uma pequena área de 1m<sup>2</sup>, folhas com evidentes manchas de herbivoria, com apenas um fruto pouco desenvolvido, sem flores. Fuste 1. Altura: 1,4 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, A.Z. M.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57972

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Ilha de Ilha, Praia da Lagoa Doce. Beira de estrada de terra, próxima a praia da Lagoa Doce, ambiente de restinga, área natural conservada e sem influência antrópica. 21°19'28" S, 40°57'54" W. Planta com hábito arbustivo de porte pequeno, altura de 1,6m e galhos laterais cobertos uma pequena área de 1m<sup>2</sup>, folhas com evidentes manchas de herbivoria, com apenas um fruto pouco desenvolvido, sem flores. Fuste 1. Altura: 1,4 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, A.Z. M.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57585

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Anjo. Próximo a estrada de terra, ambiente com urbanização crescente e desordenada, vegetação nativa de restinga rasteira em fragmentos. 22°01'38" S, 41°01'24" W.

Com uma disposição de galhos laterais cobrindo uma área de cerca de 20m<sup>2</sup>, o espécime apresentava muitas flores, algumas no início de formação de fruto, as folhas pequenas demonstrando a hipocótilo de espécie e não possuía frutos desenvolvidos. Altura: 1,6 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, S.M. A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Farias

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57585

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Anjo. Próximo a estrada de terra, ambiente com urbanização crescente e desordenada, vegetação nativa de restinga rasteira em fragmentos. 22°01'38" S, 41°01'24" W.

Com uma disposição de galhos laterais cobrindo uma área de cerca de 20m<sup>2</sup>, o espécime apresentava muitas flores, algumas no início de formação de fruto, as folhas pequenas demonstrando a hipocótilo de espécie e não possuía frutos desenvolvidos. Altura: 1,6 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, S.M. A.A. Souza, E.A.D. Pereira, C.S.B. Pereira, A.M. Santos, R. Tava, D.R. Mariano-Junior, E.B. Duarte-Junior, I.S. Farias

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57965

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Anjo. Lagoa do Anjo. Área de conservação (P.E. L. do Anjo), ao lado da Lagoa do ... ambiente de restinga com influência de urbanização desordenada e construções irregulares. 21°54'54" S, 40°58'4" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de 1,6m e ramos laterais cobrindo área de cerca de 20m<sup>2</sup>, ramos de frutos maduros, grandes e doces. Sem flores. Fuste 2. Altura: 1,6 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, S.M. A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57965

## MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (p. 10-07-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacases, Parque Estadual Lagoa do Anjo. Lagoa do Anjo. Área de conservação (P.E. L. do Anjo), ao lado da Lagoa do ... ambiente de restinga com influência de urbanização desordenada e construções irregulares. 21°54'54" S, 40°58'4" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de 1,6m e ramos laterais cobrindo área de cerca de 20m<sup>2</sup>, ramos de frutos maduros, grandes e doces. Sem flores. Fuste 2. Altura: 1,6 m. Habitat: Restinga. Hábitat-forma de vida: Ativo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fígado

Y.N. Moreira, S.M. A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Plantas medicinais e aromáticas nativas, representando, coroa e caule de cada espécie, propagação e descrição de cada espécie.





Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57966

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São João de Barra, Reserva Particular do Patrimônio Natural Canaúva, RPPN Canaúva, área protegida com fitofisionomia típica de restinga. 21°44'10" S, 41°01'35" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de cerca de 1m e com ramos laterais cobrindo uma área de 4m², apresentava muitos frutos maduros, sem flores e com presença abundante de pericarpo. Fruto 1. Altura: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 36, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57966

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São João de Barra, Reserva Particular do Patrimônio Natural Canaúva, RPPN Canaúva, área protegida com fitofisionomia típica de restinga. 21°44'10" S, 41°01'35" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de cerca de 1m e com ramos laterais cobrindo uma área de 4m², apresentava muitos frutos maduros, sem flores e com presença abundante de pericarpo. Fruto 1. Altura: 1 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 36, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57964

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacazes, Área de Proteção Ambiental Lagoa Saigada, Estrada de terra, próxima a área de proteção ambiental Lagoa do Saigado, local com vegetação de restinga bem preservada sem sinais de desmatamento. 21°55'42" S, 41°00'14" W.

Planta com hábito arbustivo com altura de cerca de 1,8m e com ramos laterais cobrindo uma área de 20m², com frutos maduros, sem presença de flores. Fruto 2. Altura: 1,8 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 34, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57964

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacazes, Área de Proteção Ambiental Lagoa Saigada, Estrada de terra, próxima a área de proteção ambiental Lagoa do Saigado, local com vegetação de restinga bem preservada sem sinais de desmatamento. 21°55'42" S, 41°00'14" W.

Planta com hábito arbustivo com altura de cerca de 1,8m e com ramos laterais cobrindo uma área de 20m², com frutos maduros, sem presença de flores. Fruto 2. Altura: 1,8 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 34, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57963

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacazes, Parque Estadual Lagoa do Açu, Área de conservação do Parque Estadual Lagoa do Açu em estrada de terra, em ambiente sem influência antrópica com fitofisionomia típica de restinga. 21°59'21" S, 40°58'50" W.

Planta com hábito arbustivo, altura de cerca de 80cm e com ramos laterais cobrindo uma área de 4m², galhos fortemente lignificados, não apresentava flores e frutos, com sinais de herbivoria. Fruto 80. Altura: 80 cm. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 33, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57963

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacazes, Parque Estadual Lagoa do Açu, Área de conservação do Parque Estadual Lagoa do Açu em estrada de terra, em ambiente sem influência antrópica com fitofisionomia típica de restinga. 21°59'21" S, 40°58'50" W.

Planta com hábito arbustivo, altura de cerca de 80cm e com ramos laterais cobrindo uma área de 4m², galhos fortemente lignificados, não apresentava flores e frutos, com sinais de herbivoria. Fruto 80. Altura: 80 cm. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 33, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57967

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São João de Barra, Rua Galvão Silva, Beira de estrada na rua Galvão Silva, local cercado com baixa influência antrópica. 21°40'11" S, 41°04'18" W.

Planta com hábito arbustivo, com cerca de 3m de altura, com muitos frutos maduros e doces. Sem flores, e com sinais de herbivoria. Fruto 3. Altura: 3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 37, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
RBR 57967

# MYRTACEAE *Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al. (jun 19-01-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São João de Barra, Rua Galvão Silva, Beira de estrada na rua Galvão Silva, local cercado com baixa influência antrópica. 21°40'11" S, 41°04'18" W.

Planta com hábito arbustivo, com cerca de 3m de altura, com muitos frutos maduros e doces. Sem flores, e com sinais de herbivoria. Fruto 3. Altura: 3 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Uso: Planta medicinal.

Nome popular: Pitanga

Y.N. Moreira, 37, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Mendes

Fig. Planta med. e anal. nat. representando, com a coloração de fundo R1 7 de propagação de desmat. de pr. e de restinga.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São Francisco de Itabapoana, Estrada de Muritiba, Beira da estrada de Muritiba, local com vegetação típica de restinga, e pouca influência antrópica. 21°34'57" S, 41°08'4" W.

Planta com hábito arbustivo, altura de 1,5m e ramos laterais cobrindo área de 4m² com frutos maduros pequenos, folhas muito brilhantes e com vários insetos alojados. Fuste 2. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 38, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São Francisco de Itabapoana, Estrada de Muritiba, Beira da estrada de Muritiba, local com vegetação típica de restinga, e pouca influência antrópica. 21°34'57" S, 41°08'4" W.

Planta com hábito arbustivo, altura de 1,5m e ramos laterais cobrindo área de 4m² com frutos maduros pequenos, folhas muito brilhantes e com vários insetos alojados. Fuste 2. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 38, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São Francisco de Itabapoana, Serra Seca, Beira de estrada de terra próxima a praia do Itabapoana, área com vegetação de restinga, construções de casas e lico no local. 21°22'25" S, 40°55'1" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de 2m e galhos laterais cobrindo uma área de 4m², com frutos maduros e algumas poucas flores. Fuste 2. Altura: 2 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 40, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São Francisco de Itabapoana, Serra Seca, Beira de estrada de terra próxima a praia do Itabapoana, área com vegetação de restinga, construções de casas e lico no local. 21°22'25" S, 40°55'1" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de 2m e galhos laterais cobrindo uma área de 4m², com frutos maduros e algumas poucas flores. Fuste 2. Altura: 2 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 40, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São Francisco de Itabapoana, Rio Paraíba do Sul, Ambiente de praia, ao lado do Rio Paraíba, local próximo a uma fazenda edifica, com lico disperso e urbanização vizinha. 21°34'2" S, 41°03'43" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de 1,5m, galhos laterais cobrindo uma área de 5m², com frutos maduros pequenos. Fuste 2. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 38, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, São Francisco de Itabapoana, Rio Paraíba do Sul, Ambiente de praia, ao lado do Rio Paraíba, local próximo a uma fazenda edifica, com lico disperso e urbanização vizinha. 21°34'2" S, 41°03'43" W.

Planta com hábito arbustivo, com altura de 1,5m, galhos laterais cobrindo uma área de 5m², com frutos maduros pequenos. Fuste 2. Altura: 1,5 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 38, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Itabapoana, Praia da Itabapoana, Beira de estrada de terra ao lado da rodovia RJ-196 e próxima a praia de Itabapoana. 21°18'54" S, 40°57'52" W.

Planta com hábito arbustivo, altura de 4m e galhos laterais cobrindo uma área de 16m², seleta de frutos maduros e sem flores. Fuste 4. Altura: 4 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 41, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



MYRTACEAE  
*Eugenia uniflora* L.

Det. M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, et al (per 19-10-2022)

Brasil, Rio de Janeiro, Itabapoana, Praia da Itabapoana, Beira de estrada de terra ao lado da rodovia RJ-196 e próxima a praia de Itabapoana. 21°18'54" S, 40°57'52" W.

Planta com hábito arbustivo, altura de 4m e galhos laterais cobrindo uma área de 16m², seleta de frutos maduros e sem flores. Fuste 4. Altura: 4 m. Habitat: Restinga. Hábito/Forma de vida: Arbustivo. Usos: Planta medicinal.

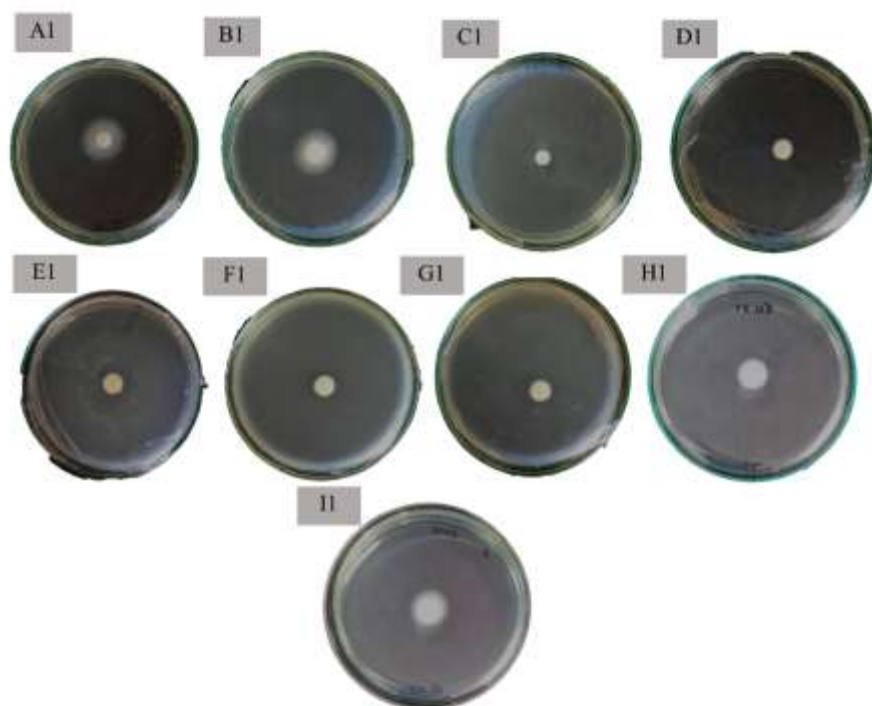
Nome popular: Fêrange

Y.N. Moreira, 41, M.A.A. Souza, C.S.B. Pereira, E.B. Duarte-Junior, A.C.R. Menezes

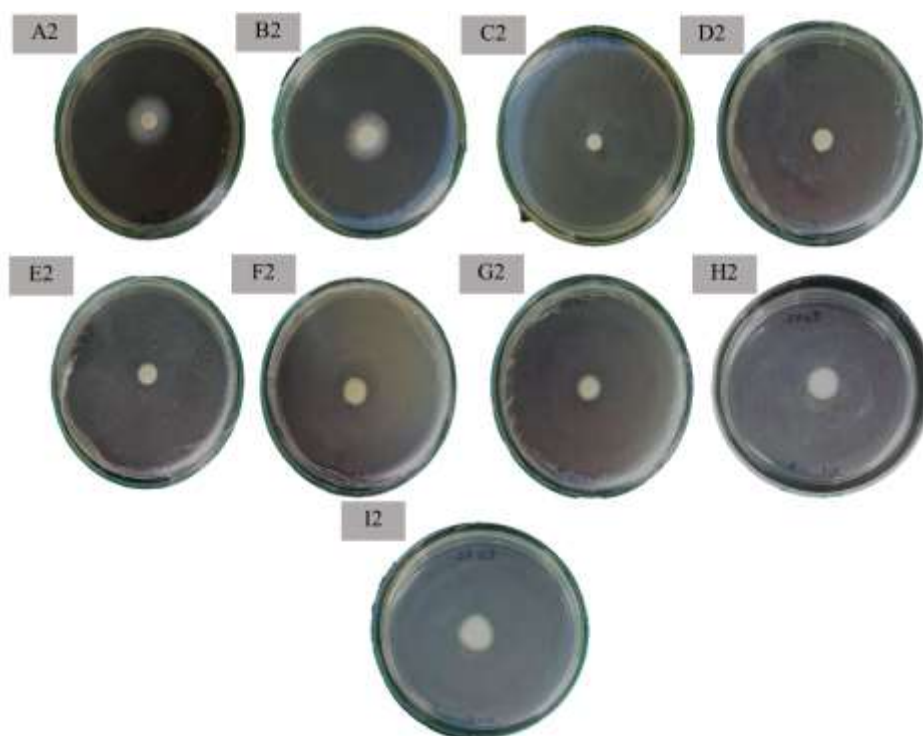
Proj. Planta medicinal, e atributos, valores, magistralmente, com o e elaboração do livro: RJ 7 de preservação do patrimônio de prod. e tecnologia.



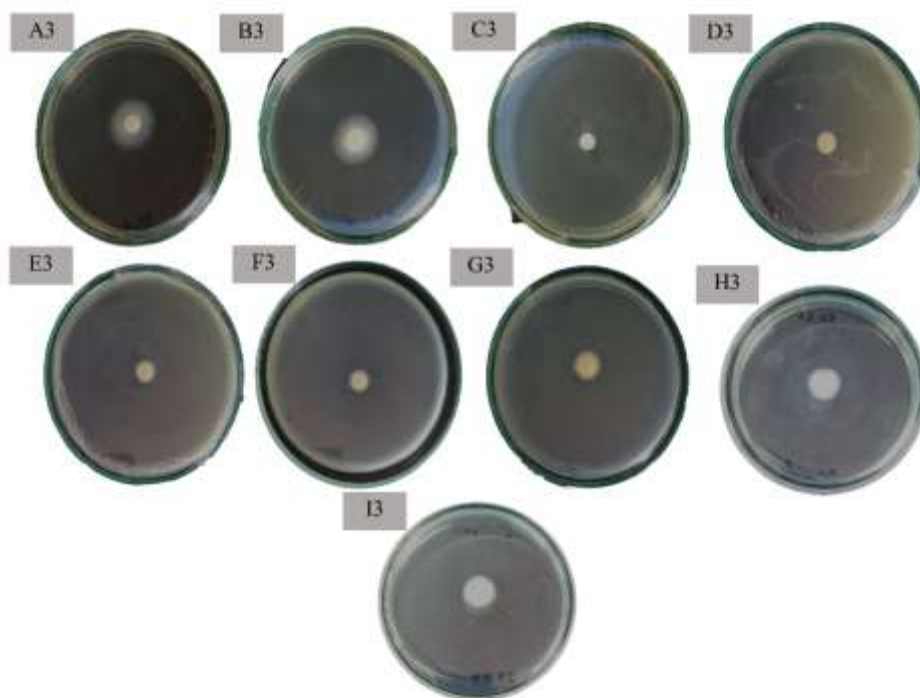
**Apêndice 6.** Imagens dos tratamentos produzidos nos testes de atividade fungicida. Fungo: *Colletotrichum gloeosporioides*; óleo essencial: EU31; tratamento testemunha (A1); tratamento controle (-) (B1); tratamento controle (+) (C1); tratamento 3,5mg/mL (D1); tratamento 1,75mg/mL (E1); tratamento 0,875mg/mL (F1); tratamento 0,437mg/mL (G1); tratamento 0,1mg/mL (H1); tratamento 0,05mg/mL (I1). Fonte: acervo pessoal.



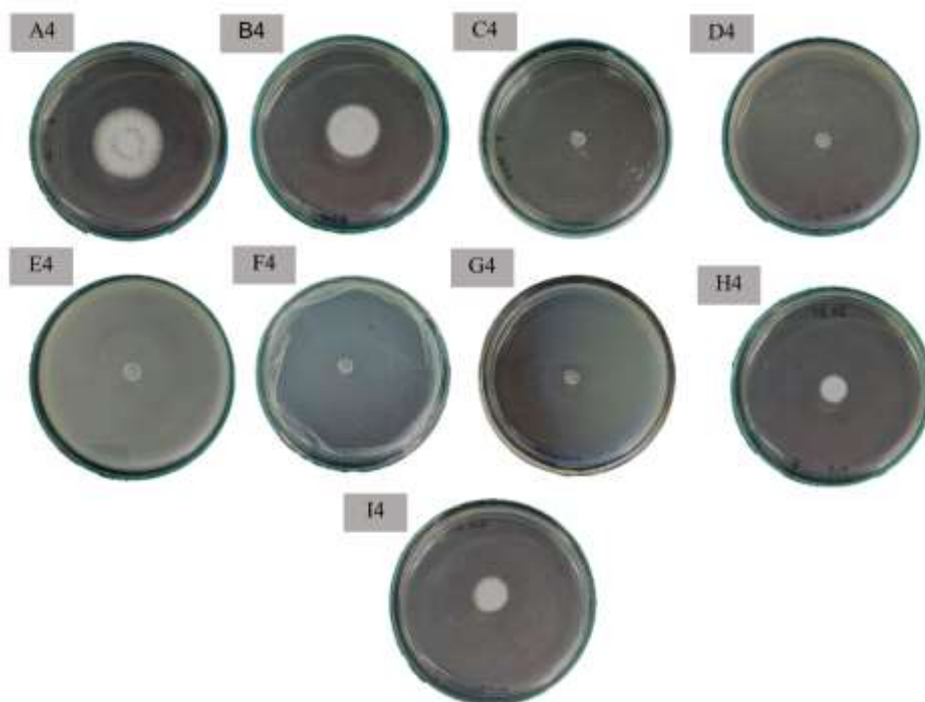
**Apêndice 7.** Imagens dos tratamentos produzidos nos testes de atividade fungicida. Fungo: *Colletotrichum gloeosporioides*; óleo essencial: EU42; tratamento testemunha (A2); tratamento controle (-) (B2); tratamento controle (+) (C2); tratamento 3,5mg/mL (D2); tratamento 1,75mg/mL (E2); tratamento 0,875mg/mL (F2); tratamento 0,437mg/mL (G2); tratamento 0,1mg/mL (H2); tratamento 0,05mg/mL (I2). Fonte: acervo pessoal.



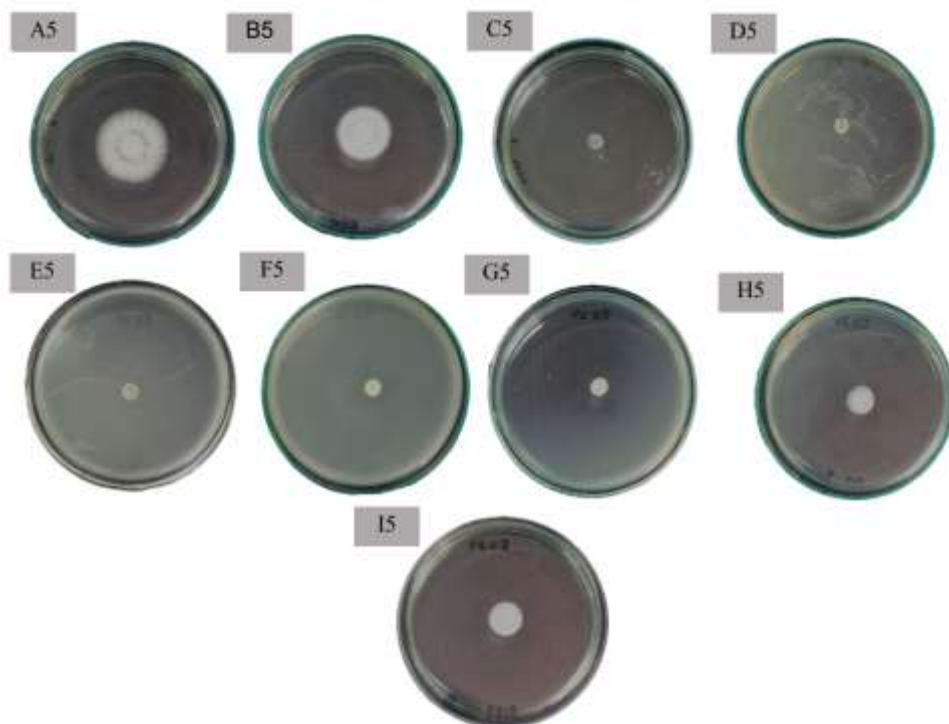
**Apêndice 8.** Imagens dos tratamentos produzidos nos testes de atividade fungicida. Fungo: *Colletotrichum gloeosporioides*; óleo essencial: EU25; tratamento testemunha (A3); tratamento controle (-) (B3); tratamento controle (+) (C3); tratamento 3,5mg/mL (D3); tratamento 1,75mg/mL (E3); tratamento 0,875mg/mL (F3); tratamento 0,437mg/mL (G3); tratamento 0,1mg/mL (H3); tratamento 0,05mg/mL (I3). Fonte: acervo pessoal.



**Apêndice 9.** Imagens dos tratamentos produzidos nos testes de atividade fungicida. Fungo: *Pestalotia* sp.; óleo essencial: EU31; tratamento testemunha (A4); tratamento controle (-) (B4); tratamento controle (+) (C4); tratamento 3,5mg/mL (D4); tratamento 1,75mg/mL (E4); tratamento 0,875mg/mL (F4); tratamento 0,437mg/mL (G4); tratamento 0,1mg/mL (H4); tratamento 0,05mg/mL (I4). Fonte: acervo pessoal.



**Apêndice 10.** Imagens dos tratamentos produzidos nos testes de atividade fungicida. Fungo: *Pestalotia* sp.; óleo essencial: EU24; tratamento testemunha (A5); tratamento controle (-) (B5); tratamento controle (+) (C5); tratamento 3,5mg/mL (D5); tratamento 1,75mg/mL (E5); tratamento 0,875mg/mL (F5); tratamento 0,437mg/mL (G5); tratamento 0,1mg/mL (H5); tratamento 0,05mg/mL (I5). Fonte: acervo pessoal.



**Apêndice 11.** Imagens dos tratamentos produzidos nos testes de atividade fungicida. Fungo: *Pestalotia* sp.; óleo essencial: EU28; tratamento testemunha (A6); tratamento controle (-) (B6); tratamento controle (+) (C6); tratamento 3,5mg/mL (D6); tratamento 1,75mg/mL (E6); tratamento 0,875mg/mL (F6); tratamento 0,437mg/mL (G6); tratamento 0,1mg/mL (H6); tratamento 0,05mg/mL (I6). Fonte: acervo pessoal.

