

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO**

**Prospecção da erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em fragmentos da Mata Atlântica nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo, em busca por genótipos com maior teor de  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -humuleno e propriedades biológicas**

**Elisabeth Alves Duarte Pereira**

**2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PROSPECÇÃO DA ERVA BALEEIRA (*Varronia curassavica* Jacq.)  
EM FRAGMENTOS DA MATA ATLÂNTICA NOS ESTADOS DO  
RIO DE JANEIRO E ESPÍRITO SANTO, EM BUSCA POR  
GENÓTIPOS COM MAIOR TEOR DE  $\beta$ -CARIOFILENO E  $\alpha$ -  
HUMULENO E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS.**

**ELISABETH ALVES DUARTE PEREIRA**

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

*e Co-orientação do Professor*  
**Emerson Guedes Pontes**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra em Química**, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração em Química.

Seropédica, RJ  
Setembro de 2022

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

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

P436p

Pereira, Elisabeth Alves Duarte, 1995-  
PROSPECÇÃO DA ERVA BALEEIRA (*Varronia curassavica*  
Jacq.) EM FRAGMENTOS DA MATA ATLÂNTICA NOS ESTADOS DO  
RIO DE JANEIRO E ESPÍRITO SANTO, EM BUSCA POR  
GENÓTIPOS COM MAIOR TEOR DE ?-CARIOFILENO E ?-HUMULENO E  
PROPRIEDADES BIOLÓGICAS. / Elisabeth Alves Duarte  
Pereira. - NOVA IGUAÇU, 2022.  
121 f.: il.

Orientador: Marco André Alves de Souza.  
Coorientador: Emerson Guedes Pontes.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós graduação em  
Química, 2022.

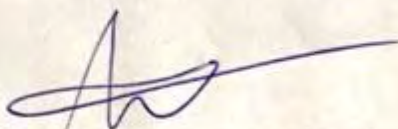
1. Boraginaceae . 2. Cordia verbenacea. 3. Óleo  
essencial. 4. Atividade biológica. 5. Diversidade  
química. I. Alves de Souza, Marco André, 1975-,  
orient. II. Guedes Pontes, Emerson , 1974-, coorient.  
III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Programa de Pós graduação em Química. IV. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

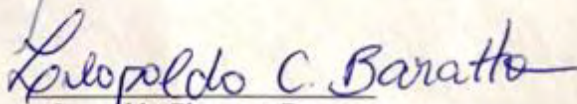
**ELIZABETH ALVES DUARTE PEREIRA**

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestra em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração Química.

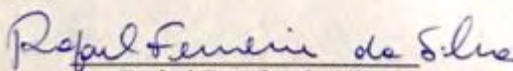
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/09/2022



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



Leopoldo Clemente Baratto  
(Dr.) UFRJ



Rafael Ferreira da Silva  
(Dr.) UFF

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, pois sem Ele seria impossível continuar esta jornada.

*“...O que as suas mãos tiverem que fazer, que o façam com toda a sua força, pois na sepultura, para onde você vai, não há atividade nem planejamento, não há conhecimento nem sabedoria... Tudo o que fizerem, façam de todo o coração, como para o Senhor, e não para os homens, sabendo que receberão do Senhor a recompensa da herança. É a Cristo, o Senhor, que vocês estão servindo...”*

*Bíblia Sagrada, Ec 9:10 e Ti 1:5.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por toda força, apoio, sustento e capacidade para enfrentar todos os desafios que o mestrado me proporcionou.

Também gostaria de agradecer a minha família, minha mãe Ivaneide, meu pai Antônio Carlos e meu irmão Isaías, por toda manifestação de amor e compaixão, além da paciência que tiveram comigo. Obrigada meu noivo Elias por todo suporte e carinho. A Débora, Elza e Cláudia por todas as orações.

Obrigada aos meus melhores amigos por sempre entenderem a minha ausência e por sempre cuidarem de mim quando eu mais precisei. Taynara, Vitor, Gabriela, Julia, Dilma e Caio. Aos meus amigos e companheiros da agronomia, Gabriel Saldanha, Rita de Kássia e Rayana por continuarem me incentivando à academia.

Meus amigos da igreja Júlio César e Davidson, eu agradeço de mais pelo suporte e pelas orações e por todo incentivo a minha caminhada espiritual.

Obrigada por toda minha equipe de saúde, a minha psicóloga Thalita, gratidão por todos os momentos em que tive ajuda emocional, ao professor Rafael Lau, por me ajudar com minha saúde física e a minha nutricionista por me ajudar a manter minha alimentação um pouco melhor.

Obrigada aos amigos do Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais, Rafael, Eduardo, Rayssa, Camila, Sandy, Bruno, Gustavo, Brenda, Ygor, Paulo, Viviane, Marcela e a todos que fizeram passagem por lá, vocês com certeza fazem parte dessa trajetória e história de vida. E não poderia deixar de agradecer ao meu mentor, professor, amigo, mestre e orientador Marco André Alves de Souza, que em todos os momentos esteve presente na minha trajetória desde a iniciação científica, me apoiando e me orientando a dar o meu melhor.

Gostaria de agradecer a minha casa Alojamento Feminino da pós, por todo acolhimento e por todo esforço que fazem para manter tudo em harmonia. Thassiany, Priscila, Thamiris, Regiane, Daiana e Eliene, obrigada por sempre me ajudar com palavras de incentivo e amor. Larissa, Nathalia e Marina obrigada minhas mestras por todas as risadas e por sempre me ajudar com os ensinamentos de química, gratidão por ter feito de mim uma agrônoma muito melhor.

Por fim, gratidão aos meus colegas da Química, Daniel, William, Nayana e Luan, por me ajudarem nas matérias e com o decorrer do curso, a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por sempre abrir as portas ao conhecimento e me formar uma profissional em Agronomia e agora uma mestra em Química e a Capes, por todo suporte financeiro por esse tempo de estudo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior-Brasil (CAPES)- código de financiamento 001.

## RESUMO

PEREIRA, Elisabeth Alves Duarte. **Prospecção da erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em fragmentos da Mata Atlântica nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo, em busca por genótipos com maior teor de  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -humuleno e propriedades biológicas.** 2022. 121p. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

A erva baleeira (*Varronia curassavica*, Boraginaceae) é uma espécie nativa da Mata Atlântica, que apresenta propriedades medicinais e, por isso, de interesse à indústria farmacêutica. Neste contexto, o presente estudo buscou estudar a diversidade química do óleo essencial de 36 plantas de *Varronia curassavica*, coletadas em regiões litorâneas do Rio de Janeiro e do Espírito Santo, em vegetação de restinga. O material vegetal foi estabilizado reduzindo o teor de umidade para próximo de 15% e em seguida o óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e submetido a análise cromatográfica (CG-DIC e CG-EM). Após a caracterização química dos óleos essenciais, os dados foram organizados e submetidos a análises estatísticas descritiva e multivariada (ACP e AAH). Também foi avaliada a toxicidade dos óleos essenciais extraídos contra o inseto-praga *Callosobruchus maculatus*, o fungo fitopatogênico *Pestalotia* sp. e a forma epimastigota do protozoário *Trypanosoma cruzi*. O óleo essencial também foi avaliado quanto a sua atividade tóxica inseticida, fungicida. Foi possível observar variações no teor de óleo essencial indo de 0,34 a 4,20%, onde os maiores teores de óleo essencial foram observados nas plantas EB24 (4,20%) correspondente ao indivíduo coletado no estado do Rio de Janeiro, seguido do indivíduo EB41 (3,93%), coletado no estado do Espírito Santo. Foram identificadas um total de 177 substâncias, no qual as substâncias com maiores frequências e maiores concentrações também foram destacadas, são elas:  $\alpha$ -Humuleno, Óxido de cariofileno, Germacreno D, (2E,6Z)-Farnesol, Shyobunol e 2,3-dihidro-Farnesol. A análise de agrupamentos hierárquicos discriminou a formação de 5 grupos distintos: grupo 1 ((2E, 6Z)-Farnesol), grupo 2 (Shyobunol e Germacreno D-4-ol), grupo 3 ( $\alpha$ -Santaleno), grupo 4 ( $\beta$ -cariofileno, Elemol e (2Z, 6E)-Farnesol) e grupo 5 ( $\beta$ -cariofileno; 1,10-di-epi-Cubenol e o 2,3-dihidro-Farnesol). Por outro lado, quando aplicados os critérios de dominância entre as substâncias majoritárias (proposta pelo grupo de pesquisa) observamos somente quatro quimiótipos (qt) diferentes entre os 36 indivíduos estudados: Shyobunol, Germacreno D (30,9; 17,3%); Shyobunol, Cubebol, Germacreno D (23,5; 12,3; 11,7%); Shyobunol,  $\alpha$ -Santaleno, Germacreno D (15; 14; 11,7 %) e Shyobunol (31,7%). Os óleos essenciais testados não apresentaram atividade tóxica relevante frente as espécies *C. maculatus* e *Pestalotia* sp., por outro lado, dois quimiótipos foram tóxicos frente a forma epimastigota de *T. cruzi*. Esses resultados apontam para uma grande diversidade química intraespecífica entre as plantas estudadas *in situ*, indicando que existem genótipos com potencial a ser explorado do ponto de vista agrônomo e biológico contra *T. cruzi*.

**Palavras-chave:** Boraginaceae, *Cordia verbenacea*, óleo essencial, atividade biológica.

## ABSTRACT

PEREIRA, Elisabeth Alves Duarte. **Prospection of wild sage (*Varronia curassavica* Jacq.) in Atlantic Forest fragments in the states of Rio de Janeiro and Espírito Santo, in search of genotypes with higher  $\beta$ -caryophyllene and  $\alpha$ -humulene content and biological properties.** 2022. 121p. Dissertation (Master in chemistry). Institute of Chemistry, Department of Organic Chemistry, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The wild sage (*Varronia curassavica*, Boraginaceae) is a native species that has medicinal properties and, therefore, of interest to the pharmaceutical industry. In this context, the present study aimed to study the chemical diversity of the essential oil of 36 *Varronia curassavica* plants, collected in coastal regions of Rio de Janeiro and Espírito Santo, in restinga vegetation. The plant material was stabilized by reducing the moisture content to around 15% and then the essential oil was extracted by hydrodistillation and subjected to chromatographic analysis (GC-FID and GC-MS). After chemical characterization of essential oils, data were organized and subjected to descriptive and multivariate statistical analysis (ACP and AAH). The toxicity of the essential oils extracted against the insect pest *Callosobruchus maculatus*, the phytopathogenic fungus *Pestalotia* sp. and the epimastigote form of the protozoan *Trypanosoma cruzi*. The essential oil was also evaluated for its insecticidal and fungicidal toxic activity. It was possible to observe variations in the essential oil content ranging from 0.34 to 4.20%, where the highest essential oil contents were observed in EB24 plants (4.20%) corresponding to the individual collected in the state of Rio de Janeiro, followed by of the individual EB41 (3.93%), collected in the state of Espírito Santo. A total of 177 substances were identified, in which the substances with the highest frequencies and highest concentrations were also highlighted, they are:  $\alpha$ -Humulene, Caryophyllene Oxide, Germacrene D, (2E,6Z)-Farnesol, Shyobunol and 2,3- dihydro-Farnesol. The analysis of hierarchical clusters discriminated the formation of 5 distinct groups: group 1 ((2E, 6Z)-Farnesol), group 2 (Shyobunol and Germacrene D-4-ol), group 3 ( $\alpha$ -Santalene), group 4 ( $\beta$  -caryophyllene, Elemol and (2Z, 6E)-Farnesol) and group 5 ( $\beta$ -caryophyllene; 1,10-di-epi-Cubenol and 2,3-dihydro-Farnesol). On the other hand, when applying the criteria of dominance among the majority compounds (proposed by the research group), we observed only four different chemotypes (qt) among the 36 individuals studied: Shyobunol, Germacrene D (30.9; 17.3%); Shyobunol, Cubebol, Germacrene D (23.5; 12.3; 11.7%); Shyobunol,  $\alpha$ -Santalene, Germacrene D (15; 14; 11.7%) and Shyobunol (31.7%). The essential oils tested did not show relevant toxic activity against the species *C. maculatus* and *Pestalotia* sp., on the other hand, two chemotypes were toxic against the epimastigote form of *T. cruzi*. These results point to a great intraspecific chemical diversity among the plants studied in situ, indicating that there are genotypes with potential to be explored from an agronomic and biological point of view against *T. cruzi*.

**Keywords:** Boraginaceae, *Cordia verbenacea*, essential oil, biological activity.



## FIGURAS

- Figura 1.** Vegetação da região litorânea do Rio de Janeiro, com fitofisionomia típica de restinga. Detalhe da área de coleta da planta *Varronia curassavica* crescendo em seu ambiente natural no município de Rio das Ostras, RJ (A) e de Ponta Negra (B). Fonte: Acervo Pessoal (2022)..... 3
- Figura 2.** Plantas medicinais listadas na ReniSUS e que se encontram na Mata Atlântica: *Eugenia uniflora* (A); *Schinus terebinthifolius* (B); *Psidium guajava* (C); *Bauhinia forficata* (D); *Maytenus ilicifolia* (E); *Mikania glomerata* (F)..... 6
- Figura 3.** Características das plantas de *Varronia curassavica*, família Boraginaceae (A-E). Detalhe do porte arbustivo da planta em seu ambiente natural (A e C). Detalhe da inflorescência do tipo espigada de erva baleeira, de tamanho pequeno e coloração branca (B). Detalhe do fruto do tipo cariopse pequeno e maduro apresentando coloração avermelhada (D). Cultivo em canteiros no IAC (E)..... 8
- Figura 4.** Detalhe da disposição das folhas de *Varronia curassavica*. As folhas de *Varronia curassavica* são simples e alternas (A). O ápice é agudo com base decorrente, com formato lanceolado e as margens das folhas são irregularmente denteadas (B).... 10
- Figura 5.** Estágios de desenvolvimento da flor da *Varronia curassavica* (A); a: Botão da flor, b: ruptura das sépalas, c: estigmas receptivos, d: corola exposta, e: expansão e separação dos lóbulos, f: flor completamente aberta, g: flor oxidada. a-g. Detalhes da inflorescência de *Varronia curassavica* Jacq. a: Flor brevilística, b: flor logilística, c e d: estrutura reprodutiva da flor brevilística e logilística respectivamente, e: inflorescência, f: infrutescência e g: gineceu com 4 lóculos (B). ..... 11
- Figura 6.** Produção de mudas de *Varronia curassavica* por sementeira. As sementes foram coletadas pelo presente grupo de estudo nas plantas do estado do Rio de Janeiro, com objetivo de posterior preparação do jardim de erva baleeira na UFRRJ. A primeira etapa consistiu em realizar a sementeira em bandejas de isopor e substrato próprio para produção de mudas (A) e na segunda etapa, após dois meses, fora realizado o transplântio das mudas para sacolas de plástico preto contendo substrato 2:1, com duas partes de areia e uma parte de matéria orgânica (B).. ..... 12
- Figura 7.** Referências da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares ao SUS, Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e Formulário de Fitoterápicos, respectivamente.. ..... 15
- Figura 8.** Acheflan, anti-inflamatório em aerossol, pomada e creme que possuem ativos do óleo essencial de *Varronia curassavica*.. ..... 16
- Figura 9.** Conjunto de hidrodestiladores do tipo Clevenger modificado. Extração de óleo essencial de folhas de *Varronia curassavica* ..... 17
- Figura 10.** Representação resumida da via do ácido mevalônico até a formação das unidades biogênicas de mono e sesquiterpenos..... 18
- Figura 11.** Representação resumida da via do metileritritol-fosfato até a formação das unidades biogênicas de mono e sesquiterpenos..... 19
- Figura 12.** Resumo da Via do Ácido Chiquímico até a formação do ácido chiquímico, precursor dos fenilpropanóides..... 20
- Figura 13.** Estruturas químicas comumente encontradas nos óleos essenciais de *Varronia curassavica*..... 21
- Figura 14.** Tricomas encontrados na *Varronia curassavica*. Tricomas reniformes (A-D) e Tricomas globulares (E-F).. ..... 22
- Figura 15.** Representação do ciclo de vida do *Callosobruchus maculatus*..... 25
- Figura 16.** As duas formas principais de *Trypanosoma cruzi*. Tripomastigota (forma sanguínea, infectante) (A) e amastigota (forma replicativa intracelular) (B)..... 27

<b>Figura 17.</b> Representação do ciclo evolutivo do <i>Trypanosoma cruzi</i> em triatomíneos e em mamíferos..	28
<b>Figura 18.</b> Locais de coleta de erva <i>Varronia curassavica</i> entre os anos de 2017 e 2020. Visão geral das coletas no Rio de Janeiro e Espírito Santo (A). Em detalhes, a localização das coletas dos indivíduos EB13 a EB24 no litoral norte do Rio de Janeiro, do município de Rio das Ostras até Campos dos Goytacazes (B), Indivíduo EB25 a EB40 na Região dos Lagos, município de Cabo-Frio e Búzios (C) e indivíduo EB41 a EB48 no litoral metropolitano do Espírito Santo (D)..	30
<b>Figura 19.</b> Secagem do material vegetal em estufa com renovação de ar a 36°C. Detalhe dos ramos prensados para preparação das exsiccatas e as folhas embaladas em sacos de papel Kraft (A). Detalhe da estufa Solab, modelo SL 102 (B)..	31
<b>Figura 20.</b> Preparação para registro no Herbário RBR. Detalhe da exsiccata montada de <i>Varronia curassavica</i> (A). Detalhe da exsiccata com a ficha de identificação (B). Exsiccatas de EB13 a EB24 no Herbário RBR, UFRRJ (C)..	32
<b>Figura 21.</b> Separação do óleo essencial. Detalhe para a filtração e secagem do óleo essencial com Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> anidro (A). Etapa de eliminação do solvente orgânico diclorometano com gás Nitrogênio (B).	34
<b>Figura 22.</b> Preparação dos ensaios para atividade fúngica. Separação do material fonte de estruturas propagativas do fungo <i>Pestalotia</i> sp. (A) Preparação da placa petri com as soluções (B). Colônia de fungo inoculada no centro da placa (C).	37
<b>Figura 23.</b> Teste de mortalidade por contato em papel de filtro contendo óleo essencial de <i>Varronia curassavica</i> contra insetos adultos de <i>Callosobruchus maculatus</i> (não sexados)..	38
<b>Figura 24.</b> Teor de óleo essencial (%) das 36 plantas de <i>Varronia curassavica</i> descritos em box-plot.	40
<b>Figura 25.</b> Concentração de Óxido de cariofileno (A), Germacreno D (B), $\alpha$ -Pinenos (C), $\beta$ -Elemeno (D), $\gamma$ -Cadineno (E), 1,8-Cineol (F), $\beta$ - Bisaboleno (G), Acetato de bornila (H), $\beta$ -Cariofileno (I) e $\alpha$ -Humuleno (J) nos óleos essenciais das 36 plantas de <i>Varronia curassavica</i> , descritos em box-plot a partir das substâncias com frequências $\geq 58\%$ ....	43
<b>Figura 26.</b> Agrupamento por análise visual dos arranjos químicos (chemoarrays). As cores representam as 10 substâncias com maiores concentrações (>15%).	45
<b>Figura 27.</b> Dendograma de dissimilaridade genética (UPMGA) com base em 36 indivíduos de <i>Varronia curassavica</i> coletados na região litorânea do Rio de Janeiro e no Espírito Santo. A linha representa a região de corte para formação dos grupos (1-5) baseados no algoritmo de Kelley-Gardner-Sutcliffe.	46
<b>Figura 28.</b> Crescimento do fungo <i>Pestalotia</i> sp. sob efeito de diferentes tratamentos. Testemunha (A); controle negativo (-) (B); Controle positivo (+) (C); Tratamento nas concentrações 0,06; 0,13; 0,25 e 0,50 mg/mL de óleo essencial de <i>Varronia curassavica</i> (respectivamente D-G).	47
<b>Figura 29.</b> Crescimento fúngico (cm <sup>2</sup> ) sob efeito do óleo essencial de <i>Varronia curassavica</i> .	48
<b>Figura 30.</b> Atividade e viabilidade das formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> testadas com os óleos essenciais de <i>Varronia curassavica</i> , onde foram testados um representante de cada grupo. O Grupo 1 teve como representante apenas o indivíduo presente no grupo, o EB45 (A), o Grupo 2 o óleo essencial do indivíduo EB18 (B), o Grupo 3 foi representado pelo EB38 (C), o Grupo 4, com o óleo essencial do EB44 (D) e por fim o Grupo 5, teve como representante o EB23 (E).	50

## TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Relação das plantas de <i>Varronia curassavica</i> coletadas, identificadas e georreferenciada. ....	33
<b>Tabela 2.</b> Teor (% m/m) de óleo essencial obtidos das folhas de <i>Varronia curassavica</i> . ....	39
<b>Tabela 3.</b> Principais substâncias encontradas nos óleos essenciais de <i>Varronia curassavica</i> . ....	41
<b>Tabela 4.</b> Quimiótipos de <i>Varronia curassavica</i> com base na dominância entre as substâncias. ....	44
<b>Tabela 5.</b> Atividade tripanocida dos óleos essenciais de <i>Varronia curassavica</i> . ....	48
<b>Tabela 6.</b> Caracterização química dos óleos essenciais dos indivíduos EB13 a GEB24. ....	74
<b>Tabela 7.</b> Caracterização química dos óleos essenciais dos indivíduos G25 a G36. ....	85
<b>Tabela 8.</b> Caracterização química dos óleos essenciais dos indivíduos G37 a G48. ....	96

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA .....	2
2.1	Potencial florístico brasileiro e a Mata Atlântica .....	2
2.2	Plantas Aromáticas e Medicinais .....	4
2.3	A Erva baleeira ( <i>Varronia curassavica</i> Jacq.) .....	7
2.3.1	Taxonomia e distribuição geográfica .....	7
2.3.2	Aspectos botânicos.....	9
2.3.3	Aspectos Agronômicos. ....	11
2.3.4	Diversidade genética da .....	13
2.3.5	Uso medicinal e fitoterápicos.....	14
2.4	Óleo essencial.....	16
2.4.1	Definições, características e aspectos gerais.....	16
2.4.2	Metabolismo e classes químicas. ....	17
2.4.3	Estruturas secretoras de óleo essencial em.....	21
2.4.4	Mercado de Óleo essencial.....	22
2.4.5	Atividade biológica dos óleos essenciais. ....	23
2.5	Atividades do óleo essencial de <i>Varronia curassavica</i> e seus constituintes.....	23
2.6	Abordagem agroecológica para a proteção de sementes contra pragas. ....	24
2.7	Atividade de óleos essenciais frente a pragas e doenças agrícolas. ....	25
2.8	Atividade de óleos essenciais contra <i>Trypanosoma cruzi</i> . ....	26
3.	OBJETIVOS.....	29
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	Regularização da atividade de pesquisa .....	29
4.2	Prospecção, identificação e coleta da <i>erva-baleeira</i> .....	29
4.3	Confecção e registro das exsiccatas .....	31
4.4	Obtenção dos óleos essenciais e rendimento (% , m/m).....	33
4.5	Análise dos óleos essenciais por CG-DIC e CG-EM.....	34
4.6	Organização da matriz quantitativa.....	35
4.7	Caracterização dos quimiótipos.....	35
4.8	Análises. ....	35
4.8.1	Análise descritiva. ....	35
4.8.2	Análise multivariada. ....	36
4.9	Atividade antifúngica e inseticida do óleo essencial de <i>Varronia curassavica</i> . ....	36
4.9.1	Materiais.....	36
4.9.2	Preparo das soluções e análises para atividade antifúngica. ....	36
4.9.3	Preparo das soluções para atividade inseticida e análises.....	37

4.10	Avaliação da atividade tripanocida contra epimastigota de <i>Trypanosoma cruzi</i> ...	38
5.	RESULTADOS .....	39
5.1	Teor de óleo essencial. ....	39
5.2	Caracterização química do óleo essencial .....	40
5.3	Avaliação dos quimiótipos e agrupamentos. ....	44
5.4	Atividade biológica do óleo essencial de <i>Varronia curassavica</i> .....	47
5.4.1	Atividade fungicida contra <i>Pestalotia</i> sp. ....	47
5.4.2	Atividade inseticida contra o <i>Callosobruchus maculatus</i> .....	48
6.	DISCUSSÃO.....	50
7.	CONCLUSÃO.....	53
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS. ....	54
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....	54
	ANEXOS.....	67

## 1. INTRODUÇÃO

A região compreendida entre o litoral do Espírito Santo e o do Rio de Janeiro se insere integralmente no bioma Mata Atlântica e algumas condições específicas criam regiões ou zonas de alta diversidade. Dentro deste ambiente de grande diversidade a erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq. (Boraginaceae)) está inserida, sendo uma alternativa para algumas comunidades no tratamento de enfermidades (MATIAS et al., 2013), principalmente para o tratamento de processos inflamatórios e dores musculares (BRISTOT et al., 2021).

Além da ação anti-inflamatória do óleo essencial (OE) promovida pelo princípio ativo  $\alpha$ -humuleno, outros estudos têm comprovado a ação analgésica e antialérgica relacionadas ao sesquiterpeno  $\beta$ -cariofileno, evidenciando a extensão das aplicações farmacológicas que podem ser observadas no óleo essencial da *V. curassavica* (BAKIR; HIM; ÖZBEK, 2008; SAYYAH et al., 2003).

O óleo essencial da *V. curassavica* também apresenta outras atividades além das farmacológicas como, ação bactericida (DE CARVALHO et al., 2004; MECCIA et al., 2009), fungicida, antiparasitária, inseticida, acaricida, entre outras atividades biológicas que podem ser exploradas com aplicação na agricultura e na saúde animal (ALVES et al., 2015; DE CARVALHO CASTRO et al., 2019; DE CASTRO NIZIO et al., 2018; DE OLIVEIRA et al., 2019; NIZIO et al., 2015).

Embora as propriedades farmacológicas do óleo essencial presente nas folhas da *V. curassavica* estejam atrelados aos dois sesquiterpenos  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno (PEREIRA et al., 2019), muitos outros compostos presentes na erva baleeira podem ser encontrados em plantas silvestres no território brasileiro, demonstrando um potencial interesse aos diferentes setores econômicos, como na indústria de aromas e fragrâncias para a fabricação de temperos e cosméticos, na indústria de química fina para o isolamento de substâncias ou para a síntese de derivados ou, simplesmente, para a comercialização do óleo essencial (LANGE et al., 2012; QUEIROZ, 1993).

Diante disso, considera-se que é de extrema importância conhecer, proteger e explorar as plantas silvestres, realizando estudos acerca da diversidade química da espécie de interesse em seu ambiente natural (*in situ*). Além disso, torna-se interessante a busca de materiais genéticos que possuam potenciais farmacológicos e concentrações de compostos conhecidos, afim de criar coleções *ex situ* de indivíduos, que apresentem estabilidade do perfil químico, afim de fornecer informações que sejam úteis para auxiliar no conhecimento da produção de óleos essenciais e de estudos de outras potencialidades que sejam de cunho medicinal, farmacológico e fitopatológico (NIZIO, 2015; PEREIRA et al., 2019).

Nesse contexto, o presente estudo teve como principal objetivo explorar a diversidade da espécie *V. curassavica* em seu ambiente natural (*in situ*), na região costeira de dois estados da região sudeste do Brasil: Rio de Janeiro e do Espírito Santo, uma vez que são regiões onde há poucas informações na literatura. Para a realização da presente pesquisa, foi necessário a realização de uma prospecção, coleta de diferentes indivíduos, extração do óleo essencial e análise do perfil químico a fim de se apropriar de informações sobre a diversidade química, potencial produtivo e exploração das atividades biológicas, para o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Potencial florístico brasileiro e a Mata Atlântica.

O Brasil é um país continental, ocupa quase metade da América do Sul e comporta uma das mais ricas biodiversidades do planeta, abrigando uma diversidade de espécies da fauna e da flora, devido a particularidade das suas distintas composições de biomas (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2022). Segundo Coutinho (2006) o bioma pode ser considerado como uma região cuja características microclimáticas são bem definidas. Essas características levam em consideração as interações das condições ambientais como a associação da fitofisionomia, organismos da fauna e flora, altitude, solo, salinidade e recursos hídricos (IBGE- 2022).

O Brasil dispõe de aproximadamente 50.097 espécies da flora e cerca de 100.000 espécies de animais, correspondendo cerca de 20% do total de espécies encontradas em terra e água (BENEDICTO, 2019; REFLORA, 2022, MACIEL et al., 2016; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2022). T tamanha grandeza, faz com que o Brasil esteja entre os cinco países com maior diversidade ecológica do planeta, e essa multiplicidade de plantas e animais se deve aos seus diferentes biomas e as transições entre eles.

Os biomas que fazem parte do território brasileiro são seis: a Amazônia, o Pantanal, o Cerrado, a Caatinga, os Pampas e ainda no domínio atlântico encontra-se a Mata Atlântica que é composta por formações florestais nativas (COUTINHO, 2006; SANTOS, 2010).

Dentre os biomas brasileiros apresentados, alguns sofreram transformações substanciais nas extensões territoriais de suas paisagens e atualmente o mais ameaçado e com a menor cobertura vegetal é a Mata Atlântica. Isso se deve principalmente aos intensos danos provocados pela ocupação histórica e toda a sua extensão relacionada a exploração predatória intensiva e desalinhada da floresta. Por exemplo, o pau-brasil, foi alvo de acentuada extração pelos colonizadores da época, levando a quase extinção da espécie, além das intensas derrubadas da vegetação nativa para a implantação das grandes plantações de monoculturas como a cana-de-açúcar na região Sul do país e café na região sudeste (CARDOSO, 2016; ZAÚ, 1998).

A Mata Atlântica, chamada assim por margear o Oceano Atlântico, foi definida pela Constituição Federal de 1988 um Patrimônio Biológico Nacional (PITONI, 2009) e é singularizada por cobrir uma grande parte da costa do país, com entorno de 27% da sua cobertura florestal original preservada (EMBRAPA, 2022; IBGE, 2022). A Mata Atlântica se entende por cerca de 15 estados brasileiros, constituindo principalmente os territórios das regiões Sul e Sudeste e um pouco do litoral de alguns estados nordestinos (IBF, 2009).

Por abarcar diferentes regiões do território brasileiro, a Mata Atlântica, apresenta diversos ecossistemas com diversificadas formações vegetais e climas. Possui regiões úmidas o ano todo, com locais de estações secas e chuvosas. O solo, que em geral é raso, é pouco ventilado, bastante úmido e pobre em nutrientes e minerais. O relevo, no qual o bioma se estende por toda planície costeira, têm variações de latitude e altitude e a vegetação, se divide em extratos: superior, dossel e baixo (MORAES, 2022; CRISTIANO; SANTOS, 2010).

Esse conjunto característico de diferentes variações, permitem que a Mata Atlântica tenha uma alta biodiversidade, tornando-se bastante heterogênea, composta por vegetações exuberantes, com estruturas e composições florísticas diferenciadas. Além disso também apresenta distintas fitofisionomias como manguezais, ilhas oceânicas no

litoral, campos de altitude, brejos interioranos, encaves florestais no Nordeste e vegetações de restingas (**Figura 1**) (CRISTIANO; SANTOS, 2010).



**Figura 1.** Vegetação da região litorânea do Rio de Janeiro, com fitofisionomia típica de restinga. Detalhe da área de coleta da planta *Varronia curassavica* crescendo em seu ambiente natural no município de Rio das Ostras, RJ (A) e de Ponta Negra (B). Fonte: Acervo Pessoal (2022).

Nas regiões brasileiras onde ainda existe a Mata Atlântica, há uma rica diversidade biológica de fauna e flora endêmicas, ou seja, espécies restritas a esse ambiente. Da flora brasileira, estima-se que cerca de 8 mil espécies vegetais sejam endêmicas, na qual em torno de 55% das espécies são arbóreas e 40% são não arbóreas, além das plantas comuns com 70% de espécies briófitas e 64% de palmeiras (IBF, 2009).

Na região sudeste, o estado do Rio de Janeiro é reconhecido por possuir a flora mais rica do país, com números bem expressivos da diversidade florística (COELHO et al., 2017b). Na atualidade, no Rio de Janeiro são registrados cerca de 334 famílias com 1.821 gêneros e 8.203 subespécies e variedades de plantas vasculares e briófitas, e 1.740 dessas são endêmicas (COELHO et al., 2017a).

Independente da localidade, a flora da Mata Atlântica brasileira apresenta composições florísticas de forma bem variada, considerando a especificidade dos ecossistemas que a constitui. A Mata Atlântica detém por exemplo, o recorde das



angiospermas, com cerca de 20 mil espécies com uma faixa de 33% a 36% do total de espécies do país. Esses valores representam a grandeza da diversidade das plantas lenhosas brasileiras quando comparadas ao grupo de angiospermas de outros países (Apremavi, 2022; BRASIL, 2009).

Devido a essa abundância florística, inúmeras espécies florestais como erva mate, caju, plantas ornamentais e medicinais são exploradas como atividade econômica pelas indústrias, agricultura, turismo, urbanização e outras atividades. Muitas vezes, parte dessa exploração ocorre de forma expansiva, ilegal e predatória, fazendo com que haja diminuição da biodiversidade. No entanto, há outras possibilidades de se desfrutar desses recursos sem a destruição ao meio ambiente (IBF, 2009).

O bioma presta diversos serviços que geram renda de forma preservacionista, principalmente para as comunidades locais, como a recuperação de florestas nativas para a produção de madeira nobre em substituição as pastagens degradadas, ecoturismo, gastronomia, uso múltiplo de espécies vegetais incluindo as plantas aromáticas para fabricação de essências de perfumes, cosméticos e o uso de plantas medicinais para produção de fitoterápicos, óleos essenciais e fibras naturais (FRANKE et al., 2005; ROSARIO et al., 2020; SANTOS, 2010).

Existem outras formas de conservação dos recursos genéticos que fazem parte da biodiversidade e que podem ser mantidos nas condições: *in situ*, que tem como finalidade conservar populações de espécies em seu estado natural, preservando não apenas os indivíduos da espécie de interesse, mas também os habitats onde as espécies ocorrem, como por exemplo, a manutenção de um banco genético (SIMON, 2010); condição *on farm*, que representa uma estratégia complementar a conservação *in situ* envolvendo a conservação de recursos genéticos da agrobiodiversidade, como o plantio de variedades crioulas cultivadas por agricultores (PAIVA et al., 2019) e por fim condição *ex situ*, que envolve a manutenção da biodiversidade fora do habitat natural, que geralmente envolvem programas de desenvolvimento e pesquisas, principalmente aqueles relacionados ao melhoramento genético e a manutenção genética como por exemplo banco de germoplasma, cultura de tecidos e núcleos de conservação (BARRIOS; JOSÉ, 2010; LINO; BECHARA, 2000; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2016).

## 2.2 Plantas Aromáticas e Medicinais.

Segundo a definição do Ministério da Saúde (2019) pela Resolução-RDC nº 14, de 14 de março de 2013, planta medicinal “é a espécie vegetal cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos” e as plantas aromáticas, “são espécies produtoras de óleos essenciais”(SENAR, 2017), que são utilizados pelas indústrias, como por exemplo hortelã, manjerição, alfavaca-cravo, alecrim e gengibre (EMBRAPA, 2022)

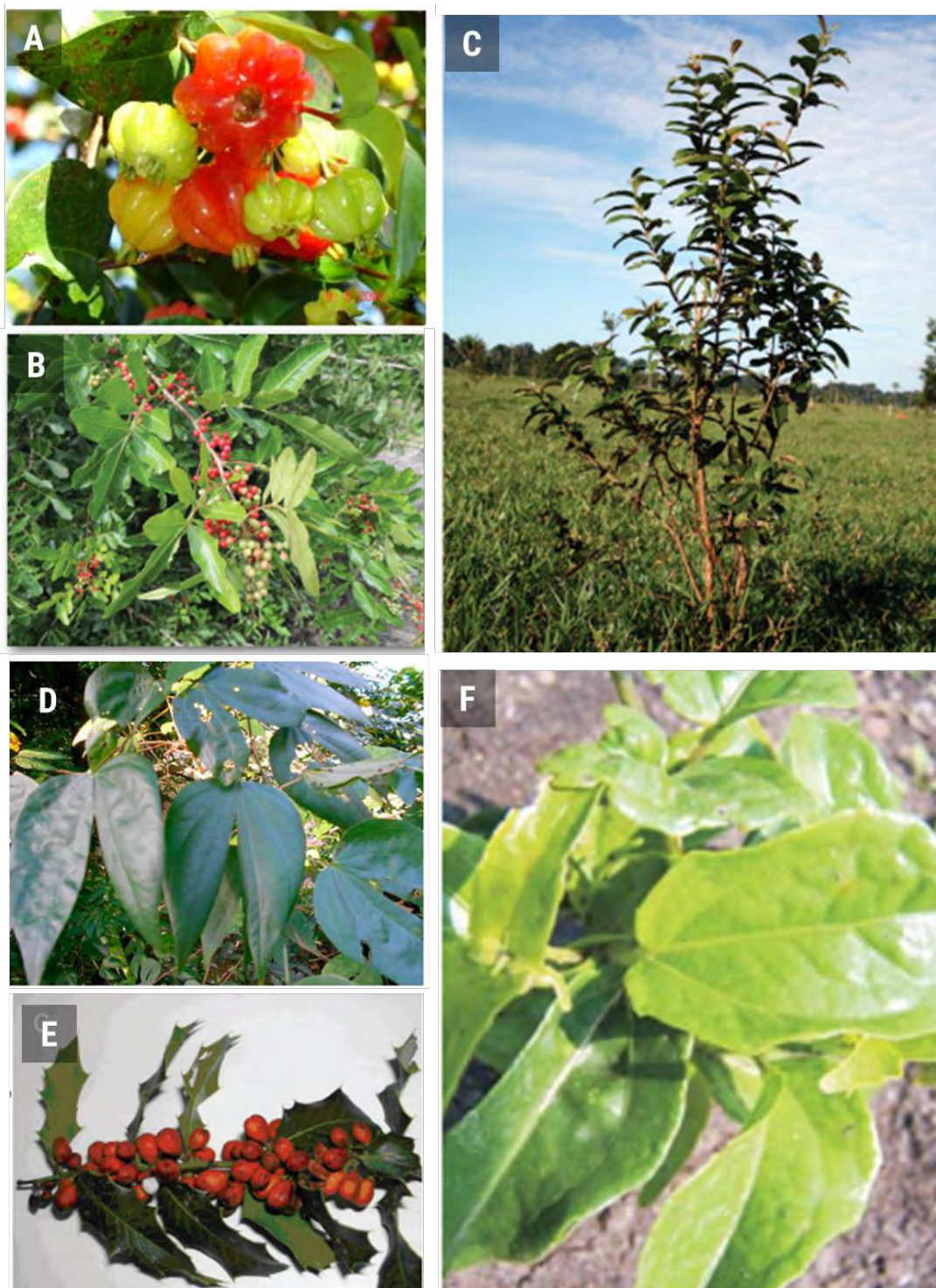
As plantas aromáticas e medicinais possuem no seu metabolismo substâncias químicas, que são capazes de provocar respostas biológicas quando introduzidas no organismo animal, além disso o consumo de medicamentos à base de plantas no Brasil é crescente. Este é um dos motivos pelo qual a produção de plantas medicinais vem se destacando no agronegócio brasileiro, representando portanto, um ponto crucial no desenvolvimento de produtos químicos e farmacêuticos (LOURENZANI, 2004; SOUZA, 2015).

Na indústria, quando a planta medicinal é empregada para obtenção de insumos para fabricação de remédios através dos seus princípios ativos, tem como resultado o medicamento fitoterápico. Segundo a definição do Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária -RDC Nº 26, (2014) os Medicamentos fitoterápicos são aqueles obtidos empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas de vegetais, com segurança e eficácia baseada em evidências clínicas. A base para produção de

fitoterápicos é a matéria-prima vegetal contendo princípios ativos que possuem eficácia e segurança comprovadas cientificamente para o tratamento de uma determinada enfermidade.

Com o objetivo de orientar e inserir com eficácia, segurança e qualidade as plantas medicinais com potencial para gerar produtos como fitoterápicos, o Ministério da Saúde (2006) elaborou e divulgou uma lista com cerca de 71 espécies de plantas medicinais de interesse ao SUS. Dentre as espécies de plantas priorizadas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (ReniSUS), algumas espécies são nativas do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Dentre as espécies medicinais relatadas na ReniSUS, algumas são nativas da Mata Atlântica como: *Eugenia uniflora* (pitanga), *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), *Psidium guajava* (goiabeira), *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha), *Passiflora alata* (maracujá doce), *Mikania glomerata* (guaco), *Maytenus ilicifolia* (espinheira santa), *Caesalpinia férrea* (pau-brasil), *Araucaria angustifolia* (araucária) e *Varronia curassavica* (erva-baleeira) (**Figura 2**) (INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO, 2021).



**Figura 2.** Plantas medicinais listadas na ReniSUS e que se encontram na Mata Atlântica: *Eugenia uniflora* (A); *Schinus terebinthifolius* (B); *Psidium guajava* (C); *Bauhinia forficata* (D); *Maytenus ilicifolia* (E); *Mikania glomerata* (F); Fonte: Adaptado de PICOLOTTO et al., (2011) (A); Adaptado de MACIEL et al., (2016) (B); Adaptado de ANDRADE et al., (2015) (C); Adaptado de SILVA-LÓPEZ; SANTOS (2015) (D); Adaptado de MARIOT; BARBIERI (2006) (E); Adaptado de VAZ, (2006) (F).

O cultivo e o uso de forma racional das plantas aromáticas e medicinais, além de se tornarem uma ferramenta de preservação (POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS, 2006) se tornaram também, um instrumento com

viés social de geração de renda e desenvolvimento econômico. Isso é possível porque compreende e mobiliza diversos setores empregatícios em todo país como, laboratórios, farmácias de manipulação, atacadistas e programas de saúde que geram uma elevada mão-de-obra. Isso demonstra que esse tipo de mercado embora seja específico é bastante amplo (SENAR, 2017).

## 2.3 A Erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.).

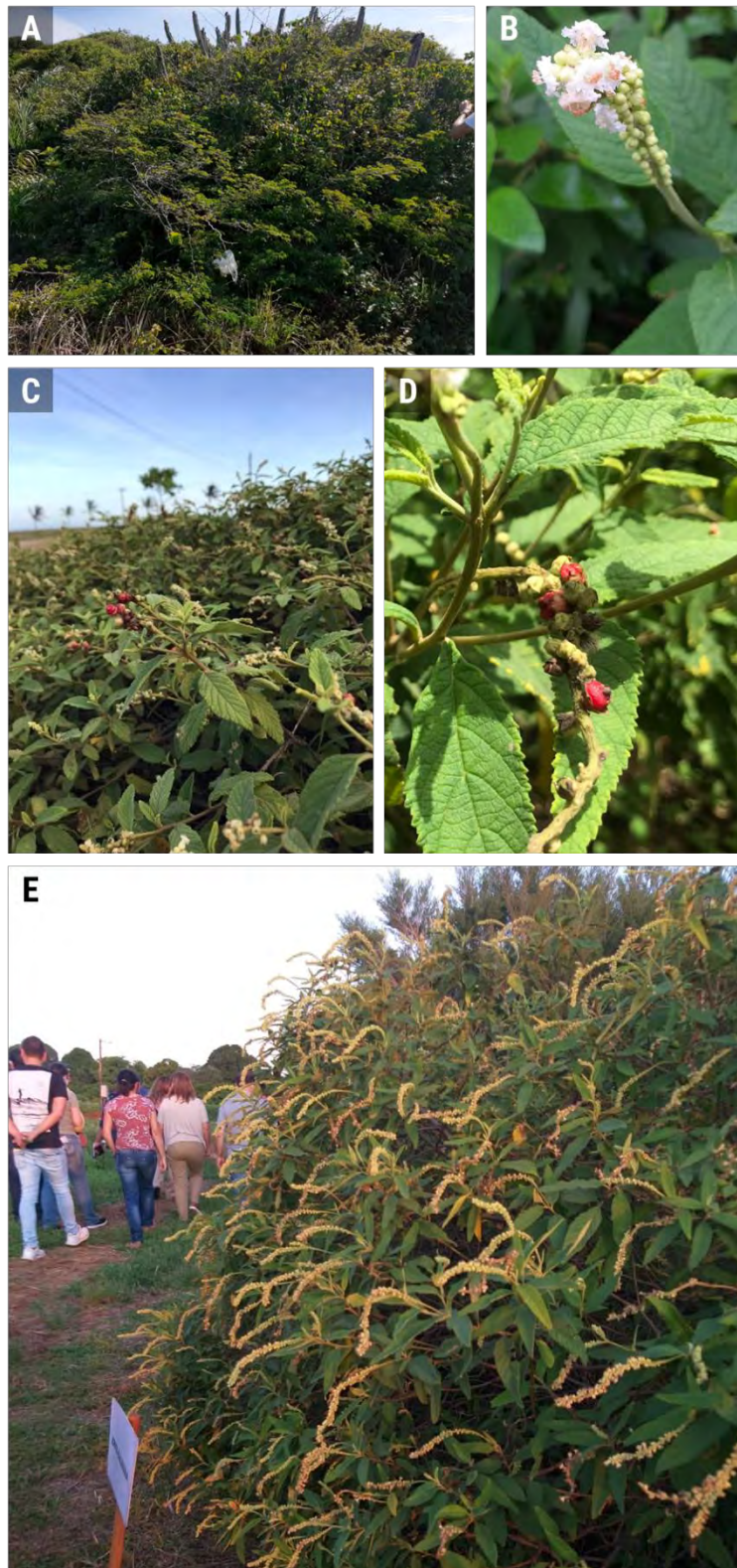
### 2.3.1 Taxonomia e distribuição geográfica.

Dentre as espécies que fazem parte do grupo das angiospermas com grande representatividade na Mata Atlântica encontra-se, a *Varronia curassavica* Jacq., de sinônimos: *Cordia curassavica* (Jacq.) Roem. & Schult, *Cordia salicina* DC. e *Cordia verbenacea* DC. pertencente a ordem Boraginales, família Boraginaceae (GILBERT; FAVORETO, 2012; STAPF; SILVA, 2020).

A família Boraginaceae reúne cerca de 130 gêneros e 2.500 espécies distribuídas nas regiões de clima tropical, subtropical e temperado. Além disso, abarca diversas espécies de herbáceas e árvores com folhas (em sua grande maioria) alternas de tamanho variado e flores hermafroditas, diclamídeas, pentâmeras, gamossépalas e gamopétalas. Os frutos dessa família podem ser classificados em drupa (que apresentam endocarpo) ou esquizocarpo (fruto seco indeiscente) podendo apresentar entre dois ou quatro mericarpos (DANTAS et al., 2021a; MELO; VIEIRA, 2017).

O gênero *Varronia* possui espécies nativas no Brasil (TÖLKE et al., 2013), dentre elas, a *V. curassavica* Jacq. (**Figura 3**) (SiBBr, 2020). Ela é conhecida popularmente por erva baleeira, maria-milagrosa, erva-preta, maria preta, salicina (STAPF; SILVA, 2022). Além disso, em inglês é conhecida como *blacksage* ou *maggy-plant* devido ao odor característico e semelhante ao de temperos prontos de carne (EL TOGHLOBI et al., 2022a).





**Figura 3.** Características das plantas de *Varronia curassavica*, família Boraginaceae (A-E). Detalhe do porte arbustivo da planta em seu ambiente natural (A e C). Detalhe da inflorescência do tipo espigada de erva baleeira, de tamanho pequeno e coloração branca (B). Detalhe do fruto do tipo cariopse pequeno e maduro apresentando coloração avermelhada (D). Cultivo em canteiros no IAC (E). Fonte: Acervo pessoal (2020).

A *V. curassavica* é uma planta nativa do Brasil e possui ocorrência registrada em quase toda América do Sul. No Brasil, se distribui do Ceará ao Rio Grande do Sul, numa faixa entre 500 a 1.000 metros do litoral, sempre acompanhando a orla do Atlântico (GILBERT; FAVORETO, 2012). É amplamente encontrada nas regiões Nordeste, Sul e Sudeste, além do mais, essa espécie está intimamente associada a fitofisionomia restinga na Mata Atlântica (LEAL-COSTA; AMÉLIA, 2017).

A restinga é um tipo de vegetação adjacente à praia, caracterizada por conter uma diversidade fisionômica e flora de poucas espécies endêmicas, quando comparada aos outros ecossistemas. Entretanto, reflete um mosaico vegetal com fortes gradientes locais. Esse complexo, abriga formações vegetais herbáceas, arbustivas e arbóreas que ocorrem nas planícies arenosas de origem marinha e fluviomarinhas. Por conta disso, o solo que forma a composição vegetal é bastante lixiviado e pobre demonstrando uma enorme vulnerabilidade (HOELTGEBAUM et al., 2018; OREIRA; ROCHA, 1994; THOMAZI et al., 2013).

Desde a colonização europeia, a vegetação de restinga passa por um contínuo processo de degradação aliada as práticas de coleta extrativista, uma vez que essa ainda continua sendo a forma utilizada para a obtenção das plantas medicinais na natureza, resultando na erosão genética (APAM, 2019; HOELTGEBAUM et al., 2018). Além disso, por estar associada a vegetação típica do litoral próximo as praias, a restinga sofre impacto das ações antrópicas relacionados ao turismo e lazer, além da acentuada ocupação dessas áreas pelo setor imobiliário, em função da expansão urbana. Por isso tem se observado a necessidade de estudos que integrem processos de gestão e planejamento estratégico a fim de minimizar os efeitos da degradação socioambiental deste ecossistema (HOLZER et al., 2004).

### 2.3.2 Aspectos botânicos.

A *V. curassavica* é caracterizada por ser um arbusto bastante ramificado, ereto, aromático e com hastes fibrosas, medindo uma faixa de 0,5 - 4 metros de altura. Suas folhas são simples, alternas, coriáceas, com formato lanceolada de margens denteadas e sua coloração varia entre diferentes tonalidades de verde (claro ao escuro) (**Figura 4**) (CLAROS, 2015; GILBERT; FAVORETO, 2012; OLIVEIRA, 2019; STAPF; SILVA, 2020).



**Figura 4.** Detalhe da disposição das folhas de *Varronia curassavica*. As folhas de erva baleeira são simples e alternas (A). O ápice é agudo com base decorrente, com formato lanceolado e as margens das folhas são irregularmente denteadas (B). Fonte: Acervo pessoal (2022).

As flores são identificadas por serem pequenas e de cor branca. Sua inflorescência é racemosa, reunidas em espigas laterais medindo cerca de 10 a 15 centímetros. O cálice é gamossépalo e lobado, as sépalas são unidas por aproximadamente dois terços do seu comprimento e a corola é obovada e dentada. O conjunto reprodutivo masculino, androceu, pode ser constituído por cinco estames e o gineceu, conjunto reprodutivo feminino, é 4-locular, apresentando 4 lóculos (GILBERT; FAVORETO, 2012; HOELTGEBAUM et al., 2018<sup>a</sup>).

Os frutos são cariopses esféricos, pequenos, drupáceos, mucilaginosos e quando maduros apresentam coloração vermelho escuro. Mede em torno de 0,4 cm e comumente pode apresentar uma semente (CLAROS, 2015; HOELTGEBAUM et al., 2018; NIZIO, 2015).

A *V. curassavica* contém antese diurna, apresenta protoginia e além de ser hermafrodita, possui um mecanismo de defesa que impede a autofecundação, a heterostilia. Esses atributos são comuns entre as espécies da família Boraginaceae (GASPARINO, 2005). A heterostilia se trata de um mecanismo de polimorfismo sexual, ligada a um sistema de incompatibilidade, onde apenas o cruzamento de diferentes morfos produzem frutos. (HERNANDEZ-MARQUEZ; ISHIWARA; SANTOS-GALLY, 2022). Nessa condição, em uma mesma população, as flores podem apresentar dois tipos morfológicos em indivíduos diferentes e os dois morfos florais presentes na espécie podem ser representados pelas flores brevistílicas, ou morfo short (S), que apresentam estames longos e pistilos curtos e as flores longistílica ou morfo long (L) que apresentam estames curtos e pistilos longos (**Figura 5**) (BRANDÃO et al., 2015).





**Figura 5.** Estágios de desenvolvimento da flor da *Varronia curassavica* (A); a: Botão da flor, b: ruptura das sépalas, c: estigmas receptivos, d: corola exposta, e: expansão e separação dos lóbulos, f: flor completamente aberta, g: flor oxidada. a-g. Detalhes da inflorescência de *Varronia curassavica* Jacq. a: Flor brevilística, b: flor logilística, c e d: estrutura reprodutiva da flor brevilística e logilística respectivamente, e: inflorescência, f: infrutescência e g: gineceu com 4 lóculos (B). Fonte: Adaptado de HOELTGEBAUM et al. (2018).

### 2.3.3 Aspectos Agronômicos.

*Varronia curassavica* é uma espécie já cultivada em plantios comerciais que visam a extração do óleo essencial para a produção de medicamentos. Ela é caracterizada por ter o ciclo de vida perene e possuir duas formas de propagação: a sexuada, com a utilização das sementes, ou a assexuada, propagada a partir de estacas de ramos novos (HOELTGEBAUM et al., 2018; STAPF; SILVA 2020; LIMA et al., 2021; VAZ; JORGE, 2006). Esta última forma de propagação tem maior viabilidade econômica, uma vez que é uma técnica que permite a uniformidade nas populações e a reprodução de genótipos de interesse (MENDES et al., 2014; POSSAMAI; COLLE; ROSSATO, 2021).

Lima et al. (2021) recomendam que o transplântio (**Figura 6**) das mudas de *V. curassavica* das bandejas para as sacolas de plástico, deva ser feito quando elas atingem um tamanho médio de 5 centímetros. Com cerca de quatro meses após a sementeira, as devidas práticas de manejo do solo devem ser realizadas. Para dar início ao plantio em campo, o espaçamento deve ser realizado sob 1,20 metros entre plantas, segundo a recomendação de Vaz e Jorge (2006).





**Figura 6.** Produção de mudas de *Varronia curassavica* por sementeira. As sementes foram coletadas durante o estudo da planta em diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro, com objetivo de formar uma coleção da espécie na UFRRJ. A primeira etapa consistiu em realizar a sementeira em bandejas de isopor e substrato próprio para produção de mudas (A) e na segunda etapa, após dois meses, fora realizado o transplântio das mudas para sacolas de plástico preto contendo substrato 2:1, com duas partes de areia e uma parte de matéria orgânica (B). Fonte: Acervo pessoal (2022).

A *V. curassavica* cresce de forma abundante em solos arenosos e pedregosos (MOTA, 2019). Porém, pode apresentar um bom desenvolvimento em solos com pH ácidos (4-5,5) e com alta saturação de alumínio (HARTWIG; RODRIGUES; OLIVEIRA JUNIOR, 2020; MENDES et al., 2015). No que se diz respeito as adaptações fisiológicas da espécie, a *V. curassavica* apresenta elevada plasticidade e aumento significativo no número de folhas e estatura quando cultivadas em pleno sol e na condição de sombreamento demonstra menor volume de massa fresca, seca e desenvolvimento radicular (RODRIGUES, 2016).

Existem poucos relatos sobre informações acerca dos modelos ou dados de produção da *V. curassavica*, entretanto, sabe-se que a espécie pode florescer em qualquer época do ano, com maior intensidade durante as estações da primavera e verão, devido ao aumento da umidade e temperatura (HOELTGEBAUM et al., 2015). O início do período das chuvas é considerado a melhor época para o plantio da *V. curassavica* e a

germinação ocorre entre 40 e 50 dias, com uma taxa média de 78% (HARTWIG; RODRIGUES; OLIVEIRA JUNIOR, 2020). A colheita pode ser realizada após um ano de plantio e acerca das cultivares existentes há apenas uma cultivar registrada no Registro Nacional de Cultivares da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2018) sob a sinonímia de *C. curassavica*, de número 39149 no dia 29/06/2018, entretanto, apesar da espécie estar registrada, não apresenta o relatório de descritores.

A *V. curassavica* é uma planta medicinal e por isso atualmente tem ganhado um grande destaque, sendo bastante explorada, visando a extração do óleo essencial presente em suas folhas para produção de medicamentos (DANTAS et al., 2021). Nessa perspectiva as técnicas apropriadas para a obtenção dos óleos essenciais são requeridas, logo, se faz necessário estudos aprofundados a esse respeito (LIMA et al., 2021). Além disso, estudos focados na seleção e melhoramento da *V. curassavica*, são fundamentais para a padronização da produção e qualidade química do óleo essencial (LIMA et al., 2021; POSSAMAI; COLLE; ROSSATO, 2021).

Alguns estudos indicam que diferentes espaçamentos e uso de cobertura morta podem interferir na produção de massa fresca de *V. curassavica*, provocando variações na ordem de 8,7 a 5,9 t/ha/ano (BRANDÃO et al., 2017). A produção de massa fresca de *V. curassavica* nas condições climáticas de Parnaíba, no estado do Piauí, Brasil, está em torno de 15 t/ha/ano (LIMA et al., 2021). Segundo Tonial et al., (2020) o rendimento de matéria seca *V. curassavica* foi de 6,7 t/ha e rendimento de óleo essencial de 66 L/ha, com 4 meses de colheita. De acordo com Morandi (2009), uma lavoura de *V. curassavica* instalada com 3 anos de idade pode fornecer de 16 a 25 t/ha/ano de massa fresca, dependendo de qualidade do material genético e técnicas de cultivo.

Atualmente o valor comercial do óleo essencial de *V. curassavica* pode chegar a R\$ 2,500 o litro (LEGEÉ, 2022). Então, há uma necessidade de se atentar aos diferentes fatores que envolvem a produção de óleos essenciais, que podem ir desde as condições de cultivo, até as condições de secagem e armazenamento.

#### 2.3.4 Diversidade genética da *Varronia curassavica*.

Apesar do enorme potencial econômico e farmacológico da *V. curassavica*, existem divergências acerca do cultivo da espécie, principalmente quanto a produção de biomassa e óleo essencial de erva baleeira na literatura. Isso se deve aos diferentes fatores que contribuem para essa variação, dentre eles: as condições climáticas, nutricionais, o manejo antes e pós-colheita, mecanismos de polinização e como eles se relacionam com a diversidade genética (CHAGAS et al., 2011; HOELTGEBAUM et al., 2015).

Nesse sentido, há uma importância acerca de estudos sobre diversidade genética de populações da *V. curassavica* e a relação desta com o manejo. Pois informações sobre ela, permite identificar alelos que sejam capazes de proporcionar ao organismo a sobrevivência em seu próprio habitat (SANTOS, 2018).

Por exemplo, alguns estudos sobre conhecimento da diversidade genética da espécie se tornaram extremamente relevantes, Coleman (1982) identificou que a espécie apresenta diploidia, com  $n=9$ . Figueira et al. (2010) desenvolveu cerca de oito marcadores microssatélites altamente polimórficos para a espécie, revelando que seis deles tinham um padrão multibandas típicos de espécies poliplóides. Além disso, outros estudos revelaram também como a interferência antrópica sobre o habitat pode influenciar na espécie, como, Hoeltgebaum et al. (2015) com objetivo de caracterizar os níveis de diversidade genética de populações de *Varronia curassavica* coletados em áreas de restinga, observou que esses níveis de diversidade são intermediários, ou seja, acredita-se que a redução populacional da espécie está diretamente atrelada a redução e fragmentação dos habitats onde a espécie ocorre, portanto, o conhecimento da

variabilidade genética é fundamental, pois com ela, permite-se com que haja domesticação da planta, incorporação da mesma nos sistemas produtivos regionais e incorporação de estratégias preservacionistas a fim de conservá-la, como por exemplo medidas de conservação *ex situ* (FIGUEIRA et al., 2010; SANTOS, 2018).

### 2.3.5 Uso medicinal e fitoterápicos.

O resgate da ciência tradicional das sociedades humanas passadas e presentes são importantes instrumentos voltados para o uso sustentável dos recursos naturais. Logo o estudo da etnobotânica e a etnofarmacologia são importantes ferramentas para integração das espécies vegetais com propriedades curativas como integrantes da cultura e da civilização. A etnobotânica é um termo que abrange a reunião de informações a cerca conhecimento da flora de uma região pelo ser humano, ou seja, é o estudo das relações existentes entre os povos e as plantas, bem como elas são utilizadas como recurso (BOSCOLO; FERNANDES; ROCHA, 2015; DE BRITO; DE OLIVEIRA; RODRIGUES, 2021). Já a etnofarmacologia, se trata da relação entre o conhecimento popular mesclado aos sistemas tradicionais de medicina (ELISABETSKY, 2003; FERREIRA; MARTINS, 2016).

Desde a antiguidade o uso de plantas medicinais vem sendo utilizado como modelo de recurso terapêutico com finalidade de tratamento e prevenção de diversas doenças pela humanidade. Foi descoberto, por exemplo, relatos de plantas com finalidades terapêuticas em 2000 a. C. e em 1500 a.C., também foram encontrados os primeiros registros com diversas informações acerca de espécies vegetais em um manuscrito egípcio chamado “*Papiro de Ebers*” da farmacopeia egípcia. Esses eventos acabam evidenciando então, que desde os povos primitivos até a descoberta e a propagação do uso dessas plantas fazem parte da cultura popular (PEREIRA et al., 2016; SILVA et al., 2019).

Segundo a OPAS (2020), o uso da medicinal tradicional tem uma longa história, ancestralidade ou tradição associados a soma de conhecimentos e práticas baseadas em crenças que são explicáveis por métodos científicos, utilizado para manter a saúde, diagnosticar, melhorar ou tratar doenças físicas e mentais.

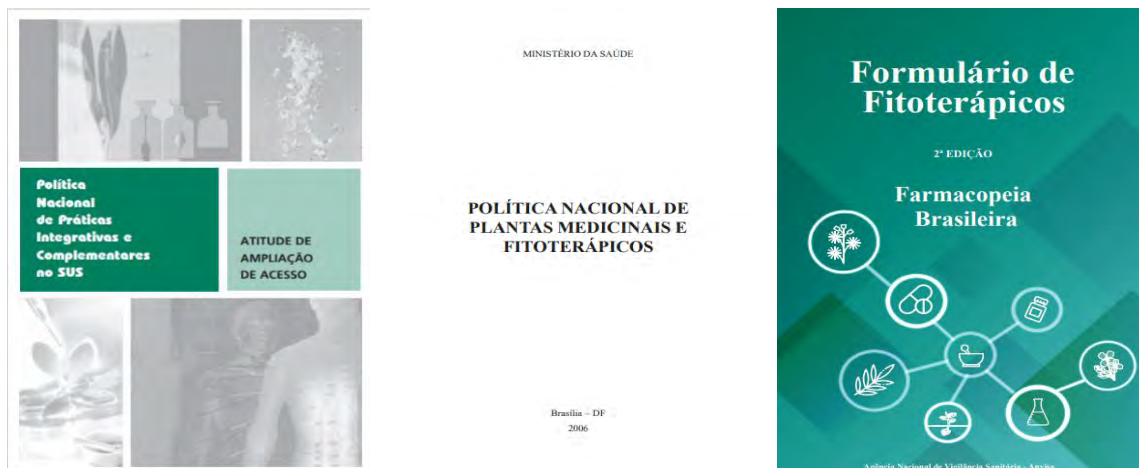
No Brasil, a reunião dos diversos conhecimentos de plantas medicinais trazidos pelos jesuítas associados aos saberes dos povos indígenas, africanos e europeus, auxiliaram no controle de doenças. Esse hábito acabou sendo incorporado na cultura brasileira e atualmente cerca de 80% da população utilizam plantas medicinais como recurso terapêutico (FERREIRA et al., 2021; PEREIRA et al., 2016).

Pelo fato de o Brasil dispor uma das maiores diversidades vegetais do mundo, o país acaba por apresentar um grande potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos. Segundo Oliveira et al., (2018) a fitoterapia é um método de tratamento que utiliza plantas medicinais como uma modalidade de terapia integrativa e complementar diante das necessidades da saúde. No Brasil há duas políticas nacionais com objetivo de garantir a integralidade a atenção à saúde, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF).

Em 2006 a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (2006) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (2006) foram criadas norteando alguns princípios para a melhoria e a atenção da saúde (**Figura 7**). A PNPMF tem como objetivo evidenciar o uso sustentável da biodiversidade brasileira, o fortalecimento da agricultura familiar, gerar empregos, renda e provocar o desenvolvimento industrial e tecnológico. A PNPIC tem como objetivo incorporar e implementar as práticas integrativas e complementares no SUS, contribuir no aumento da resolubilidade do

Sistema, ampliação ao acesso à PNIPIC garantindo qualidade, eficiência e segurança e promover a racionalização das ações de saúde.

Além dessas duas políticas nacionais, em 2021 a Anvisa aprovou a 2ª edição do Formulário de Fitoterápicos (**Figura 7**). Ele é composto de monografias, organizadas por espécies vegetais, contendo oitenta e cinco monografias e oitenta e cinco espécies medicinais, dentre essas, encontra-se *V. curassavica* com orientações para o preparo, embalagem e armazenamento, advertências, indicações e modo de uso (ANVISA, 2021).



**Figura 7.** Referências da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares ao SUS, Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e Formulário de Fitoterápicos, respectivamente. Fonte: (ANVISA, 2021; BRASIL., 2009; BRASIL- MS, 2006).

As propriedades medicinais da *V. curassavica* fazem parte do conhecimento tradicional de comunidades brasileiras e foram apropriadas pela indústria farmacêutica para a produção de um fitoterápico bem promissor (HOELTGEBAUM et al., 2018a). Em 2004, saiu no Diário Oficial da União a aprovação do registro do anti-inflamatório tópico Acheflan (**Figura 8**), produzido pela Aché, cujo produto natural é o óleo essencial de erva-baleeira, descrita na época com a sinonímia *C. verbenacea* DC. (DANTAS et al., 2021). De acordo com a bula do medicamento fitoterápico Acheflan, o princípio ativo no óleo essencial é o alfa-humuleno que tem que estar presente na concentração de 0,130 mg/g de creme ou aerossol e possui como indicação terapêutica o tratamento local de processos inflamatórios (Aché®, 2021).



**Figura 8.** Acheflan, anti-inflamatório em aerossol, pomada e creme que possuem ativos do óleo essencial de erva baleeira. Fonte: Ache. Disponível em: < <https://www.ache.com.br/quem-somos/nossa-historia/>> Acesso: 22/01/2022.

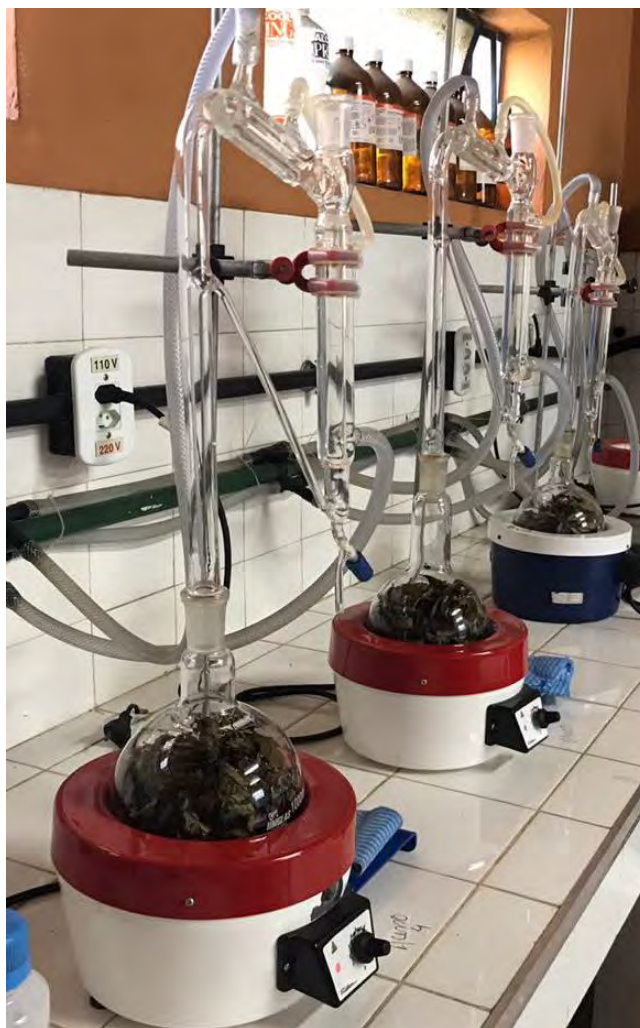
## 2.4 Óleo essencial.

### 2.4.1 Definições, características e aspectos gerais.

Por definição da ISO 9235:2013, óleo essencial é o “produto obtido a partir de uma matéria prima natural de origem vegetal, por destilação a vapor, por processos mecânicos do epicarpo de frutos cítricos, ou por destilação seca, após separação da fase aquosa (se existir) por processos físicos”. É importante ressaltar que essas metodologias físicas que são participantes do processo (filtração, decantação e centrifugação) não mudam a sua composição original (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2013).

A hidrodestilação (**Figura 9**) é um método onde o material vegetal fica totalmente, ou parcialmente em contato com a água fervente (BUSATO et al., 2014). Ainda, para a obtenção dos óleos essenciais é necessário, em alguns casos, que haja a fragmentação do material vegetal, para facilitar a extração (COSTA et al., 2005) e matérias-primas como sementes, folhas, flores, cascas, rizomas, frutos, madeiras e caule estão envolvidos na produção de óleos essenciais (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).





**Figura 9.** Conjunto de hidrodestiladores do tipo Clevenger modificado. Extração de óleo essencial de folhas de erva baleeira. Fonte: Acervo pessoal (2022).

Quanto as características físicas, os óleos essenciais são voláteis, comumente líquidos e incolores a temperatura ambiente e possuem densidade menor que a água, com algumas exceções como por exemplo os óleos essenciais de cravo, canela, sassafrás e vetiver. Além disso, possuem atividade óptica e índice de refração altos (DHIFI et al., 2016).

Na perspectiva química, também podem ser definidos como misturas de natureza complexa com a presença de uma grande variedade de compostos pertencentes a diferentes classes químicas, entre elas álcoois simples e terpênicos, éteres, aldeídos, cetonas, ésteres, aminas, amidas, fenóis e cumarinas (MALECK et al., 2021; MILLER, 2001).

A complexidade dos óleos essenciais concilia a sua propriedade odorífera com diversos aspectos, apresentam de modo geral baixa toxicidade para os mamíferos, são produtos biodegradáveis e por conta disso, apresentam baixa persistência no meio ambiente, porém, não se descarta a possibilidade de oferecer riscos e efeitos colaterais a saúde humana e animal, por ser um produto concentrado. Além disso são considerados farmacologicamente ativos (MAES et al., 2021; MELO et al., 2019; REGNAULT et al., 2012).

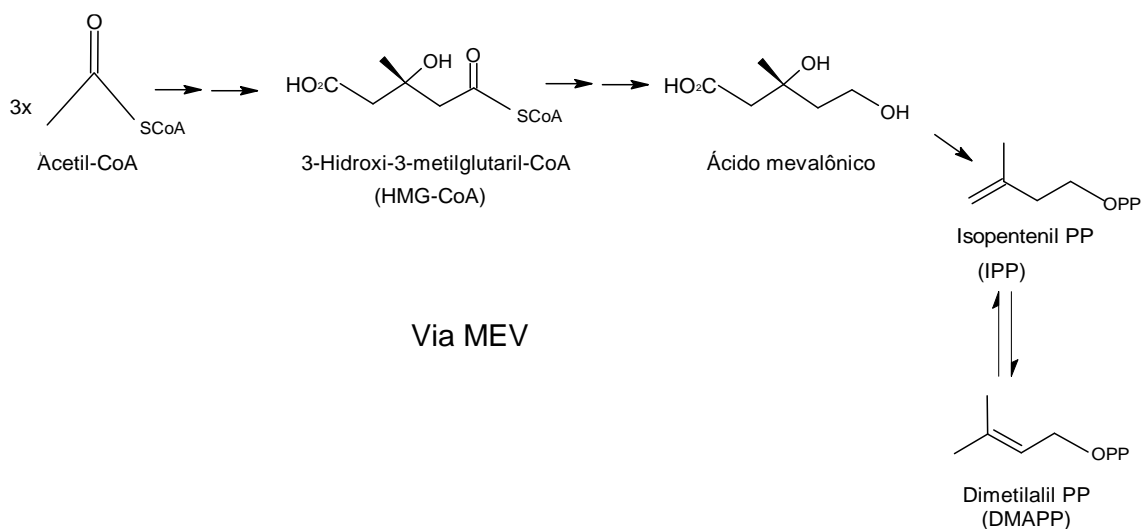
#### 2.4.2 Metabolismo e classes químicas.

As substâncias produzidas pelo metabolismo das plantas podem ser classificadas

de diferentes formas, entre elas se destacam as produzidas pelo metabolismo primário e secundário (MORAIS, 2009). Os metabólitos primários, como os açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos, são aqueles que se destacam por fazer parte dos processos que são primordiais para as funções vitais da planta como fotossíntese, respiração, transporte e assimilação de nutrientes a fim de garantir o seu crescimento e desenvolvimento celular (AMORIM; BORGES, 2020). Os metabólitos secundários por sua vez, são substâncias que apresentam diversas funções ecológicas como alelopatia, atração de animais polinizadores, toxicidade contra herbívoros, agentes fitopatogênicos como bactérias e fungos, fazendo então com que a planta tenha uma melhor adaptação pelas condições impostas pelo ambiente (MALECK et al., 2021; MORAIS, 2009).

Os metabólitos secundários são sintetizados em diferentes vias de biossíntese e são classificados de acordo com o tipo estrutural. Nos óleos essenciais, duas classes químicas são predominantes: os terpenóides e derivados de fenilpropanóides (MALECK et al., 2021). Os terpenóides são compostos formados por duas ou mais unidades isoprênicas, que por sua vez são constituídos por cinco átomos de carbono (C5). A depender do número de unidades isoprênicas, os terpenóides recebem diferentes denominações, por exemplo, os monoterpenos, que possuem duas unidades isoprênicas (C10) e os sesquiterpenos contendo três unidades isoprênicas (C15), esses, são as principais classes de terpenóides presentes nos óleos essenciais (AMORIM; BORGES, 2020).

Nas plantas, as unidades isoprênicas podem ser formadas por duas vias, a do ácido mevalônico (MVA) que é uma rota citoplasmática (**Figura 10**) e a via plastidial denominada de via do Metileritritol-fosfato (MEP) (**Figura 11**). Os fenilpropanóides são sintetizados pela via do ácido chiquímico (**Figura 12**) que ocorre nos plastídeos (OKADA, 2011; SANGWAN, et al., 2001).

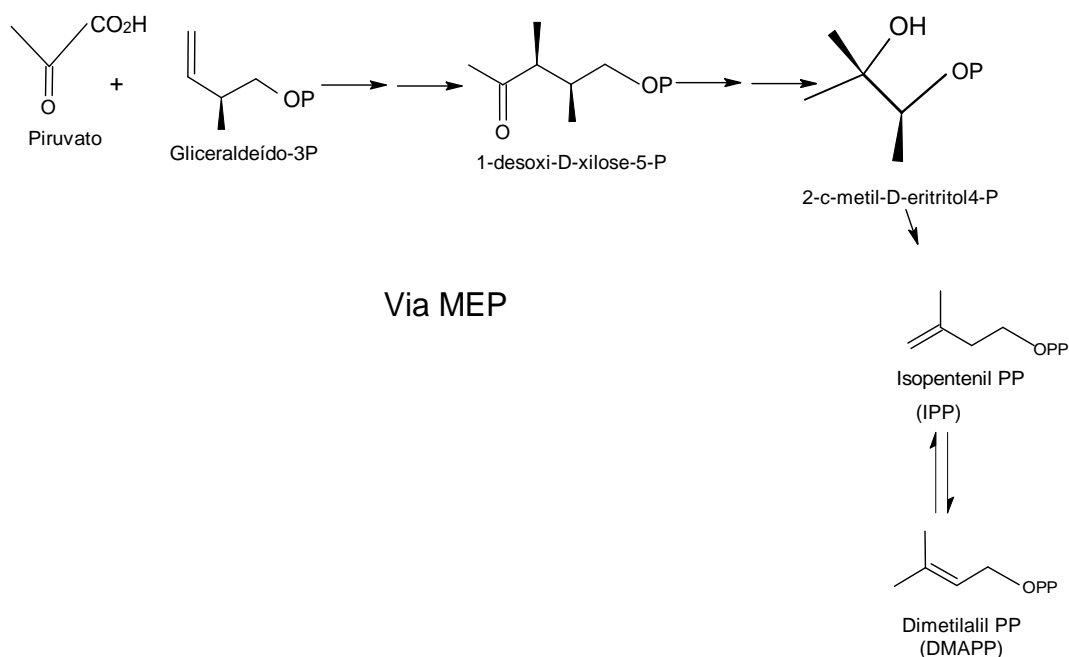


**Figura 10.** Representação resumida da via do ácido mevalônico até a formação das unidades biogênicas de mono e sesquiterpenos. Fonte: Modificado de SANTOS (2020).

Na via MVA os intermediários de biossíntese são três moléculas de acetato ativadas a coenzima-A (acetil-CoA) que se condensam para formar após várias etapas em dimetilalil-pirofosfato (DMAP) e isopentenil-pirofosfato (IPP). Na Via MEP, por sua vez, dois intermediários da via das pentoses fosfato plastidial, o piruvato e o gliceraldeído-3-fosfato, são condensados para ao final da via, formar os isoprenóides DMAP e IPP. Essas unidades biogênicas se condensam através da catalise da enzima geranyl difosfato sintase formando o geranyl difosfato (GPP). O GPP, é uma molécula de 10 carbonos, que são

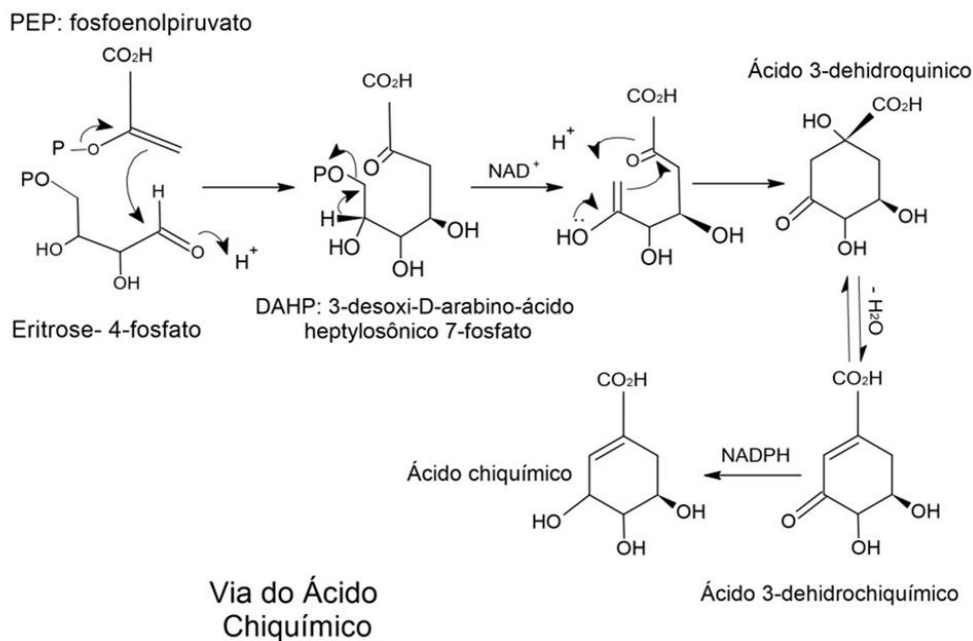
precursoras da maioria dos monoterpenos. Uma vez que o GPP se condensa a mais uma molécula de IPP, catalisada pela enzima farnesil difosfato sintase, forma o intermediário farnesil difosfato (FPP), que possui 15 carbonos, e é a molécula precursora da maioria dos sesquiterpenos (SANTOS, 2020).

Os fenilpropanóides compartilham em parte a mesma via que dá origem aos aminoácidos aromáticos, a via do chiquimato ou do ácido chiquímico, que tem início na condensação dos precursores eritrose-4-fosfato e o fosfoenolpiruvato, provenientes da via das pentoses fosfato plastidial e de uma via glicolítica ancestral que também ocorre nos plastídeos. Uma vez formado, o ácido chiquímico passa por diversas reações sintetizando os aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano). A fenilalanina formada é desaminada pela fenilalanina amônia liase, originando o ácido cinâmico, o primeiro fenilpropanoide (KLEINGESINDS, 2016; MOTA, 2019).



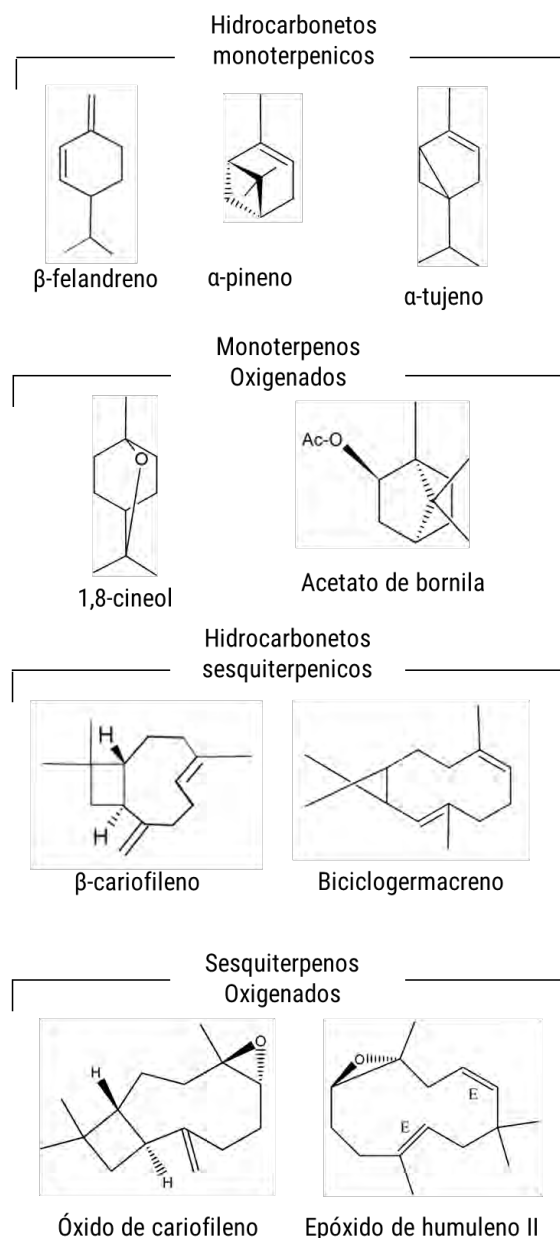
**Figura 11.** Representação resumida da via do metileritritol-fosfato até a formação das unidades isoprenicas. Fonte: Modificado de SANTOS (2020).





**Figura 12.** Resumo da Via do Ácido Chiquímico até a formação do ácido chiquímico, precursor dos fenilpropanóides. Fonte: SANTOS (2020).

Monoterpenos e sesquiterpenos e suas formas oxigenadas são as principais classes químicas encontradas nos óleos essenciais de erva-baleeira. O sesquiterpeno  $\alpha$ -humuleno é o marcador químico da espécie, apesar de não constar como uma substância majoritária (**Figura 13**). Além deste, outros sesquiterpenos são comuns nos óleos essenciais de *V. curassavica*, como:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -felandreno, 1,8-cineol,  $\alpha$ -tujeno,  $\beta$ -cariofileno, biciclogermacreno, óxido de cariofileno e epóxido de humuleno II (BARROSO QUEIROZ et al., 2019; GILBERT; FAVORETO, 2013; OLIVEIRA et al., 2020; SILVA, 2006; MECCIA et al., 2009).



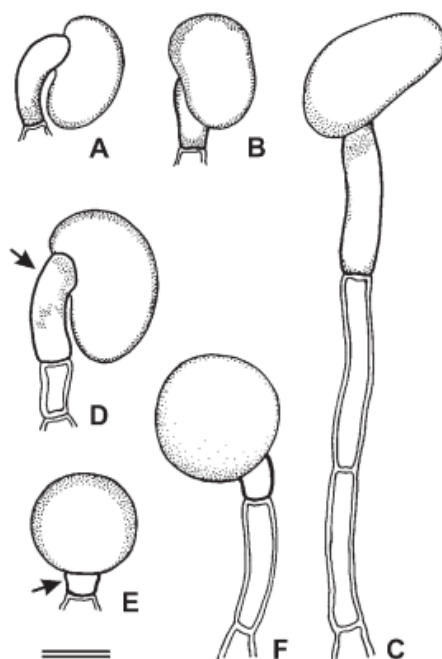
**Figura 13.** Estruturas químicas comumente encontradas nos óleos essenciais de *Varronia curassavica*. Fonte: Adaptado de Adams (2017).

#### 2.4.3 Estruturas secretoras de óleo essencial em *Varronia curassavica*.

As plantas sintetizam, acumulam ou eliminam substâncias em células especializadas, nos seus diferentes órgãos. A secreção pode estar presente em uma vasta diversidade de estruturas, como por exemplo, idioblastos (células parenquimáticas diferenciadas) ou em estruturas multicelulares, como tricomas, bolsas, canais, cavidades e laticíferos (FIGUEIREDO., et al 2007).

No gênero *Varronia*, em especial na espécie *V. curassavica*, as estruturas relacionadas a secreção de óleos essenciais são tricomas. Ventrella e Marinho (2008) usando técnicas de microscopia de luz, fluorescência e eletrônica de varredura nas folhas, observaram a existência de tricomas glandulares do tipo globular e reniforme e não glandulares, curtos e longos com corpos cistólicos (**Figura 14**). Além disso, estudos

fitoquímicos indicam que há altas proporções de mono e sesquiterpenos nesses tricomas (VENTRELLA; MARINHO, 2008).



**Figura 14.** Tricomas encontrados na *Varronia curassavica*. Tricomas reniformes (A-D) e Tricomas globulares (E-F). Fonte: VENTRELLA; MARINHO, (2008).

#### 2.4.4 Mercado de Óleo essencial.

A demanda por óleos essenciais tem aumentado anualmente de forma consistente. Como matéria prima, eles possuem grandes aplicações em diversos setores industriais (aroma e fragrâncias, farmacologia e química fina) e de serviços como: aromaterapia e outras integradas a saúde e bem estar (BIZZO et al., 2009; FACANALI et al., 2020; REGNAULT-ROGER et al., 2012; SOUZA et al., 2010).

Em termos de valores econômicos, os principais países que compõe o ranking do mercado de óleos essenciais são: a Índia, os EUA, França, China e Brasil, muito embora, em termos de quantidade exportada o Brasil ocupe o primeiro lugar, devido ao grande volume produzido e exportado de óleo essencial de laranja e cítricos (BIZZO; REZENDE, 2022).

O mercado de óleos essenciais no Brasil é ressaltado por possuir uma vantajosa biodiversidade de recursos naturais em relação a outros países, exportando por volta de 22 óleos essenciais. Dentre eles, alguns óleos essenciais se destacam, o de laranja, eucalipto e o de limão. Cerca de 154, 6 mil toneladas de OE de laranja foram produzidos, o equivalente a 418 milhões de dólares; em torno de 7.520 toneladas de óleo essencial de eucalipto foram exportadas nos últimos 10 anos, gerando em torno de 83 milhões de dólares; o óleo essencial de limão, por sua vez, foi responsável pela movimentação de 136 milhões em exportações desde 1997 (BIESKI et al., 2022; BIZZO; REZENDE, 2022)

Quanto a importação de óleos essenciais, o país importa em torno de 32,978 toneladas, com destaque para o óleo essencial de menta japonesa (42%); cerca de 14,180 toneladas de *Mentha arvensis* L. foram importados em 10 anos, representando um total de 186 milhões de dólares (BIESKI et al., 2022).

Em 2020, o país teve uma exportação de óleo essencial e materiais de sabor bem expressiva, com cerca de 72.064,39 toneladas, que representa um faturamento de US\$ 151,99 milhões e importou por volta de 14.277,06 toneladas, representando US\$229,9

milhões (BUENO et al., 2021). Destes valores, 36,6 mil toneladas exclusivamente de óleos essenciais foram exportados, confirmando que o Brasil tem um lugar de destaque na produção de óleos essenciais e é um importante ator na cadeia de produção e comercialização de óleos essenciais e com impacto na balança comercial (BIZZO; REZENDE, 2022; SILVA et al., 2019).

#### 2.4.5 Atividade biológica dos óleos essenciais.

Estudos evidenciam que os óleos essenciais apresentam propriedades biológicas e podem ser utilizados como uma alternativa aos produtos de base sintética. Os óleos essenciais são utilizados como conservantes naturais no controle microbiano, por exemplo, o óleo essencial de cravo que possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Typhimurium* (RADÜNZ et al., 2019), ou o óleo essencial de louro que apresenta atividade antifúngica contra *Aspergillus flavus* (BELASLI et al., 2020).

Também possuem atividades medicinais comprovadas como a *Rosmarinus officinalis*, com propriedades analgésicas, *Lavandula angustifolia* que pode servir no tratamento de depressão e ansiedade, *Illicium verum*, no tratamento de cólicas e doenças de pele. Além disso, o uso dos óleos essenciais podem ter atividade inseticida ou repelente como por exemplo a espécie *Cymbopogon winterianus* que serve como repelente contra mosquitos (KARADAG et al., 2019; STAUDT et al., 2021; MELO et al., 2021; MIR et al., 2020). Segundo Brito et al. (2021) os óleos essenciais de *Citrus sinensis* e a *Pimenta racemosa* apresentaram sinergismo quanto ao efeito inseticida contra *Sithophilus zeamais*.

#### 2.5 Atividades do óleo essencial de *Varronia curassavica* e seus constituintes.

São os constituintes presentes no OE de *V. curassavica* que lhes conferem as propriedades medicinais e biológicas. Dentre as atividades medicinais e biológicas se destacam: antineoplásica, anti-inflamatória, analgésica, antiofídica, antimicrobiana, antifúngica, antibacteriana e repelente (GILBERT; FAVORETO, 2013; SILVEIRA, et al., 2012).

Para atividade antineoplásica, Baveloni (2018) na busca por tratamentos alternativos para o câncer cervical, isolou a substância cordialina A, de *V. curassavica* e observou forte atividade antineoplásica. Além disso, Parisotto (2011) avaliando o potencial antitumoral dos extratos da mesma planta, observou inibição do crescimento tumoral em camundongos, validando a utilidade da planta como agente antitumoral.

Também foi relatado por Sertié et al. (2005) em seus estudos investigativos, a atividade anti-inflamatória e analgésica de *V. curassavica*. Eles avaliaram a inibição da inflamação pelo extrato etanólico das folhas de *V. curassavica*. Propuseram a indução de edemas nas patas dos ratos, com nistatina e observaram que a administração tópica do extrato das folhas de *V. curassavica* havia inibido o edema e que a administração oral tem efeito semelhante ao da nimesulida, demonstrando efeito analgésico bem como Oliveira (2002), que validou a atividade anti-inflamatória de *V. curassavica*. Em seu experimento, houve inibição da síntese e/ou atividade dos prostanóides, uma vez que houve redução do edema da pata dos camundongos induzido pela fosfolipase A<sub>2</sub> do veneno da *Naja Naja*.

Roldão et al. (2008) avaliaram a atividade antiúlcera utilizando o extrato vegetal da *V. curassavica*, pelos métodos etanol/HCL, etanol e lesões gástricas induzidas por piroxicano e validaram que o extrato possuía uma potente atividade antiúlcera. Outra propriedade medicinal apresentada pela espécie, é a antiofídica. Ticli et al. (2005) notou uma inibição significativa do uso do extrato metanólico de *V. curassavica* em edemas originados a partir de picada de cobra *Bothrops jararacuçu*.

Além das propriedades medicinais, outros estudos também constataram a

atividade biológica que o óleo essencial de *V. curassavica* apresenta. Rodrigues et al. (2012) observaram resultados positivos relacionados a atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *C. krusei* e atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e negativas utilizando uma concentração inibitória mínima de 64 µg/mL. Outros autores também defendem a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *V. curassavica* como Meccia et al., (2009) que ao realizarem o método de disco difusão em ágar, mostraram que o óleo essencial de *V. curassavica* foi ativo contra as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* com uma concentração inibitória mínima de 170 µg/mL e 200 µg/mL. Alves, Santos & Matias (2014), ao utilizarem o extrato hexânico de *V. curassavica*, avaliaram o potencial antibacteriano e modulador da resistência bacteriana de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e observaram que ao combinar os extratos com o antibiótico, há sinergismo e potencialização do efeito antibacteriano de aminoglicosídeos, concluindo que esse extrato hexânico é uma possível fonte de produto natural.

Nizio (2015) com a finalidade de avaliar o potencial antifúngico da *V. curassavica* contra *Lasiodiplodia theobromae*, testou cinco grupos de óleos essenciais com diferentes indivíduos (I, II, III, IV, V). Como resultado o indivíduo II, IV e V, que continham triciclono e canfeno; *E*-cariofileno e 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil) e por fim shyobunona e 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil) respectivamente, em uma concentração de 3% (v/v), inibiram 75% do crescimento micelial nos fungos após 96 horas de incubação.

E Oliveira et al. (2019) com intento de avaliar a sobrevivência da formiga, fizeram bioensaios de toxicidade de fumigação e atividade locomotora contra formiga *Dorymyrmex thoracicus*, espécie que pode causar danos à saúde humana, utilizando o óleo essencial de *V. curassavica* (6 acessos). A exposição da formiga ao óleo essencial a uma concentração letal de 50% exibiu resposta a sobrevivência da formiga, afetando a atividade locomotora e causando repelência. Entre outros autores que avaliaram o efeito do óleo essencial de *Varronia curassavica* em outro inseto, Santos et al. (2006) constataram esse óleo de fato, possuía potencial larvicida contra larvas de terceiro instar do mosquito *Aedes aegypti*.

## 2.6 Abordagem agroecológica para a proteção de sementes contra pragas.

O Brasil é considerado um grande país produtor e exportador de commodities agropecuárias como fibras, carnes, soja, cana-de-açúcar, laranja e outros. No entanto, o setor agrícola enfrenta diversas perdas econômicas devido a ação dos insetos pragas, doenças causadas por microrganismos e plantas daninhas. Nesse contexto, é necessário investigar e monitorar quais são os fatores e as principais pragas que levam aos respectivos impactos econômicos para os produtores e para o país (OLIVEIRA et al., 2014). Contudo, tem se observado nas últimas décadas, uma certa negligência quanto ao uso indiscriminado dos agrotóxicos no combate as pragas, causando males ao meio ambiente (LOGANATHAN et al., 2011; VENZON et al., 2021).

Dentre os males causados pelo uso dos agrotóxicos se destacam: o acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, contaminação de recursos hídricos, intoxicação de produtores rurais e o aparecimento de pragas resistentes. Diante disso, existe a necessidade de se substituir os agrotóxicos por métodos de controle de pragas ou por produtos seguros que apresentem menor risco à saúde humana e ao ambiente (CORRÊA; SALGADO, 2011; JÚNIOR; et al., 2022).

Diante disso, tem sido crescente a procura de técnicas conservacionistas dentre eles, o uso de produtos naturais para o controle de pragas. O mercado internacional de biopesticidas por exemplo, registrou um crescimento anual de 15% e no Brasil, o

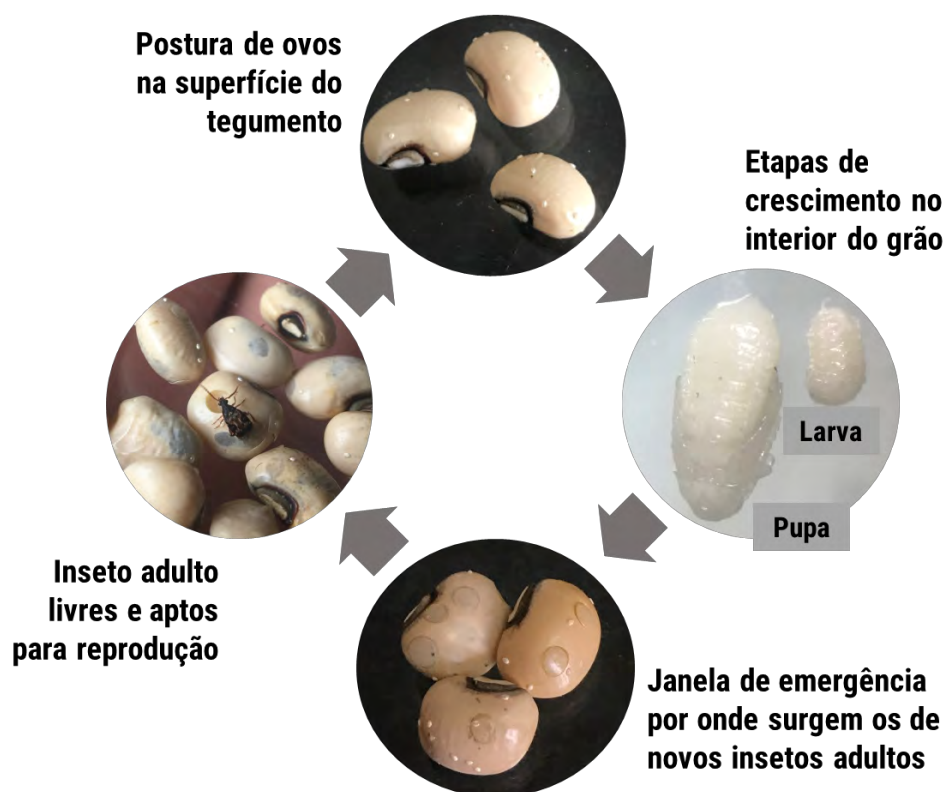
crescimento foi acima de 70%. (VENZON et al., 2021).

Entre os produtos naturais, algumas substâncias vegetais têm sido consideradas como base para formulações no manejo de pragas, pois podem ter vários efeitos sobre os insetos como efeito tóxico e repelente afetando o comportamento e o desenvolvimento deles (MOREIRA et al., 2007). Por isso, há uma crescente exploração pelas indústrias agrícolas nos produtos vegetais, a fim de produzir novos pesticidas a base de plantas (KEDIA et al., 2015).

## 2.7 Atividade de óleos essenciais frente a pragas e doenças agrícolas.

O cultivo do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) se destaca nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, pois é um alimento com um amplo significado social: é um suprimento nutricional e participa da fixação de mão-de-obra. Entretanto, o feijão-caupi é danificado por diversos insetos pragas, entre eles, se destaca o *Callosobruchus maculatus*, ou popularmente conhecido como gorgulho do feijão-caupi. Esse inseto é responsável por provocar perdas significativas do feijão no campo e também no armazenamento pós-colheita, podendo chegar até 100% de perdas, isso se deve ao seu ciclo de vida (BARBOSA et al., 2013; JÚNIOR; VILARINHO, 2017).

As fêmeas do besouro põem em média 80 ovos, os quais são depositados no tegumento da semente e após a eclosão, as larvas começam a se desenvolver no interior do grão formando galerias através da alimentação do conteúdo interno da semente até se transformarem em pupas. Ao final do ciclo, quando adultos, os insetos perfuram o grão e fazem uma janela de emergência (Figura 15). Esses eventos fazem, com que haja redução do peso do grão, diminuição da qualidade e viabilidade das sementes (KALPNA; HAJAM; KUMAR, 2022; MASSANGO et al., 2017).



**Figura 15.** Representação do ciclo de vida do *Callosobruchus maculatus*. Fonte: Acervo pessoal (2022).

Apesar da eficácia obtida pelo controle químico dessa praga, o uso dos químicos sintéticos podem levar a resíduos de inseticidas em grãos, populações resistentes e provocar reinfestações nas condições de armazenamento (BARBOSA et al., 2013; JÚNIOR; VILARINHO, 2017). Dessa maneira percebe-se um carência de estudos de métodos alternativos que sejam ecológicos e sustentáveis no controle do gorgulho do feijão-caupi (SANON et al., 2018).

Dentre eles se destaca o emprego de óleos essenciais (SANON et al., 2018). Alves et al. (2019) investigaram o efeito fumigante do óleo essencial de capim limão e Citral sobre o ciclo reprodutivo do gorgulho do feijão-caupi e observou que a exposição do inseto ao óleo essencial causou uma diminuição na postura de ovos e emergência de novos adultos e que o composto citral apresentou efeito mais forte na mortalidade e menor na postura de ovos. Matos et al. (2020) avaliou o potencial efeito inseticida dos óleos essenciais de *Illicium verum* e *Eugenia caryophyllus* e notou que esses óleos essenciais apresentaram potencial efeito fumigante sobre *C. maculatus* e outros dois óleos essenciais foram testados por Jumbo et al. (2018), de cravo e canela que apresentaram atividades inseticida contra o gorgulho do feijão-caupi.

Além dos insetos-pragas, os alimentos também podem sofrer ataques de outros organismos como por exemplo, fungos e bactérias. Eles podem ser agentes causadores de doenças nas plantas. Os fungos são capazes de produzir metabólitos secundários, micotoxinas, que são contaminantes naturais e persistem em alimentos e rações (ZIMMERMANN; FURUIE; KATISKI, 2019). Dentre os gêneros de fungos considerados pragas, o gênero *Pestalotia* sp., se destaca por causar doenças em diversas espécies de plantas como coqueiro, morangueiro e cajuzeiro, (PERES, et al., 2018). Esse fungo é caracterizado como parasitas endófitos ou sapróbios, possuem estruturas como, conidióforos curtos e simples e apêndices apicais alojados em acérvulos escuros (OLIVEIRA; ANTOLIOLLI; MORAES, 1991).

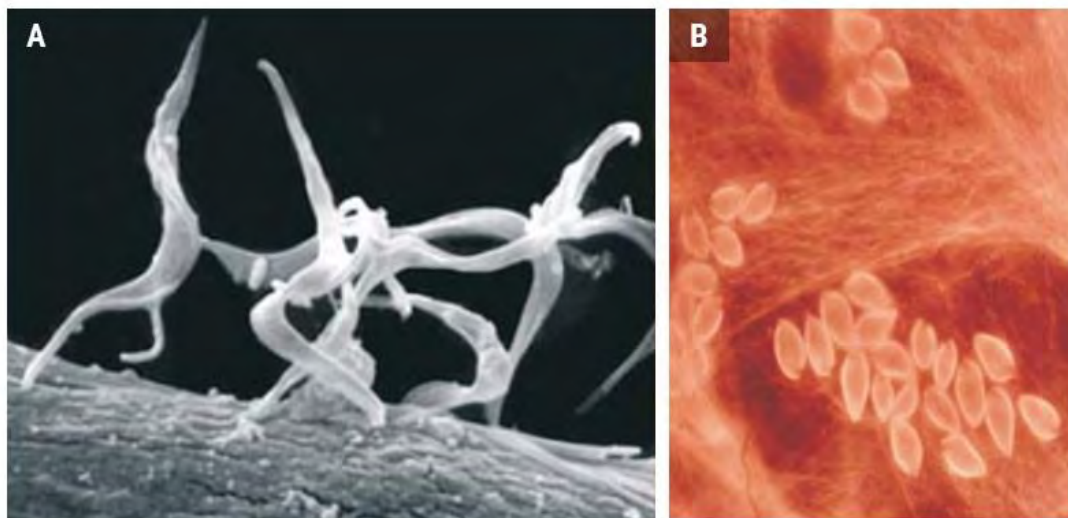
Ainda há divergências acerca do gênero a respeito de sua morfologia, pois há contradições quanto a existência de separação ou unidade com o gênero *Pestalotiopsis*, inclusive, há descrições que indicam algumas diferenças entre os mesmos, não se sabendo se há distinção entre eles (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2011). Entretanto alguns autores consideram que *Pestalotiopsis* seja sinonímia de *Pestalotia* (DIONÍZIO CARDOSO et al., 2003).

O *Pestalotia* sp. causa danos econômicos por ocasionar lesões nas folhas de coloração castanho escura, podendo formar frutificação no centro da lesão que acometem pecíolos, estolhos, sépalas, frutos e causar morte de mudas (TEIXEIRA et al., 2015). Logo, se faz necessário o controle da sua disseminação e produtos naturais tais como óleos essenciais com compostos secundários ativos, também tem se tornado uma alternativa no controle de patógenos como fungos (DE ARAÚJO et al., 2019). Silva (2019) testou alguns óleos essenciais dentre eles o óleo essencial de *Piper gaudichaudianun* contra os fungos do gênero *Pestalotiopsis* spp. Esse óleo essencial tinha como compostos majoritários o fenilpropanoide Dilapiol (66,26%), seguido pelos sesquiterpenos,  $\alpha$ -Cariofileno (8,131%), Bicyclogermacreno (4,53%) e Isocariofileno (3,38%) e observou a completa inibição do crescimento micelial do fungo, atestando a atividade antifúngica desse óleo essencial.

## 2.8 Atividade de óleos essenciais contra *Trypanosoma cruzi*.

A doença de Chagas (DC) é causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi*. Essa doença é endêmica da América Latina e é caracterizada por ser uma zoonose causada por insetos da ordem Hemiptera, que afeta mais de 70 gêneros de hospedeiros mamíferos (PACHECO et al., 2021; VERMELHO; RODRIGUES; SUPURAN, 2020).

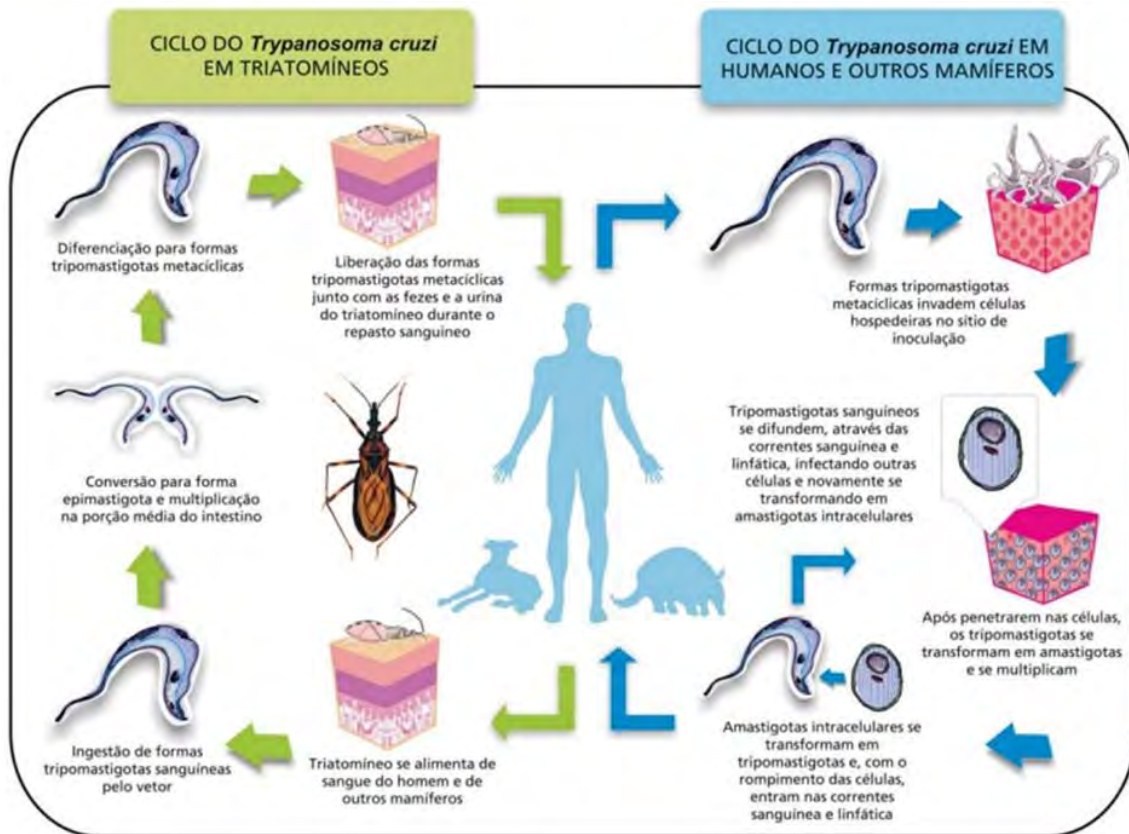
A principal via de transmissão é a vetorial, podendo ser via sanguínea (transfusão), placentária, oral e acidental. O ciclo evolutivo do *T. cruzi* se apresenta de duas formas principais no ser humano: a forma tripomastigota, que é considerada como infectante circulante, mas não replicativa e a forma amastigota, forma replicativa e intracelular (**Figura 16**). Ainda há uma terceira forma que ele pode se apresentar, a epimastigota, forma presente no lúmen do intestino do inseto, onde ocorre multiplicação por divisão binária (KAWAGUCHI et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2008; VERMELHO; RODRIGUES; SUPURAN, 2020).



**Figura 16.** As duas formas principais de *Trypanosoma cruzi*. Tripomastigota (forma sanguínea, infectante) (A) e amastigota (forma replicativa intracelular) (B). Fonte: Adaptado de Argolo et al. (2008).

O *T. cruzi* quando eliminado pelas fezes do barbeiro se apresenta na forma tripomastigota. Uma vez que o inseto infectado se alimenta do sangue humano e transmite o protozoário, ele infecta as células próximo ao local da picada e assumem a forma de amastigota, que se multiplica rapidamente. Após a sua multiplicação, ocorre o rompimento celular e os tripanossomídeos entram na corrente sanguínea e no sistema linfático, assumindo a forma tripomastigota sanguíneo. Dessa forma, se espalham pelo organismo infectando mais células e criando novos ciclos (**Figura 17**) (ARGOLO et al., 2008).





**Figura 17.** Representação do ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi* em triatomíneos e em mamíferos. Fonte: Argolo et al. (2008).

A DC apresenta duas fases distintas: a fase aguda, que dura de 4 a 8 semanas e incluem sintomas de febre, inflamação no local da inoculação, edema palpebral unilateral e a fase crônica que pode ser classificada como indeterminada, cardíaca e digestiva. A fase indeterminada é caracterizada pela soropositividade para *T. cruzi* com ausência de sinais e sintomas cardíacos e digestivos. O cardíaco é o mais grave, porque afeta o sistema de condução e o miocárdio e o digestivo é o menos comum, com sintoma que envolvem disfagia, odinofagia, refluxo esofágico e perda de peso (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; OLIVEIRA et al., 2008).

O tratamento antiparasitário para DC se resumia no uso de dois fármacos, o Benzonidazol (BZN), medicamento de primeira escolha utilizado na fase aguda e o Nirfutimox (NFX) que atua produzindo espécies reativas de oxigênio que são tóxicos para o parasito (PONTES et al., 2021). Entretanto, atualmente o Nirfutimox, deixou de ser utilizado no tratamento da doença, uma vez que começou a apresentar problemas de resistência e embora o BZN seja usado desde 1970, ele apresenta muitos efeitos adversos devido as altas doses administradas e apesar de eficaz na fase aguda, não é eficaz na fase crônica (BRITO et al., 2021; DA SILVA et al., 2012).

Devido aos problemas apresentados na atual forma de tratamentos comerciais existentes, observou-se a necessidade de se avaliar novas formulações farmacêuticas e novos compostos que sejam ativos em tripanosomatídeos, eficazes, não tóxicos e de baixo custo (AZEREDO, 2013; CUNHA-FILHO et al., 2012). Nesse contexto, dentre as modalidades da medicina integrativa, estudos de espécies vegetais para obtenção de um fitofármaco (substâncias ativas isoladas de materiais vegetais, ou a mistura de substâncias ativas, matéria prima de origem vegetal), com extratos naturais e óleos essenciais com atividade tripanocida tem sido empregados como uma alternativa ao tratamento da doença

de Chagas (ALVES; MACIEL; CÂMARA, 2020; VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005).

Os óleos essenciais atuam induzindo apoptose e danificando as mitocôndrias dos organismos (PEREIRA et al., 2021a). Silva et al. (2020) realizaram um estudo *in vitro* acerca da atividade tripanocida, em formas tripomastigotas e os efeitos citotóxicos em células da linhagem LLCMK, dos óleos essenciais das folhas de *Zanthoxylum riedelianum*, *Zanthoxylum rhoifolium* e *Kilmeyera coriacea* e dos frutos de *Xilopia atomática* e *Zanthoxylum rhoifolium* e observaram que todos os óleos essenciais apresentaram atividade inibitória, causando perda de viabilidade dos tripomastigotas, também observou que todos os óleos essenciais tinham efeito tóxico para as células estudadas nas concentrações de 100 µL.mL<sup>-1</sup>, o que indica que todos os óleos avaliados tinham baixa citotoxicidade, demonstrando que esses óleos eram excelentes candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos. Azeredo, (2013) avaliou a atividade tripanocida dos óleos essenciais de canela, limão, capim citronela, pitanga, alecrim e pinho e observou que dentre eles, o óleo essencial de canela é ativo sobre as três formas evolutivas de *T. cruzi*.

### 3. OBJETIVOS.

Como objetivo principal, buscamos avaliar a diversidade quanto ao teor e perfil químico do óleo essencial de *V. curassavica* crescendo em seu ambiente natural, realizando a busca por espécimes em fragmentos da Mata Atlântica (prospecção), na região compreendida entre o litoral do Espírito Santo e o litoral Rio de Janeiro, achamos por bem coletar plantas nesse local para realização da pesquisa, uma vez que são regiões onde há poucos estudos relatados na literatura e por serem regiões próximas e sob influência da UFRRJ. Além disso, também analisamos a atividade biológica dos óleos essenciais de erva-baleeira frente a microrganismos e pragas de interesse a saúde e a agricultura, a fim de explorar o potencial biotecnológico da planta em outros segmentos que não estão descritos na literatura.

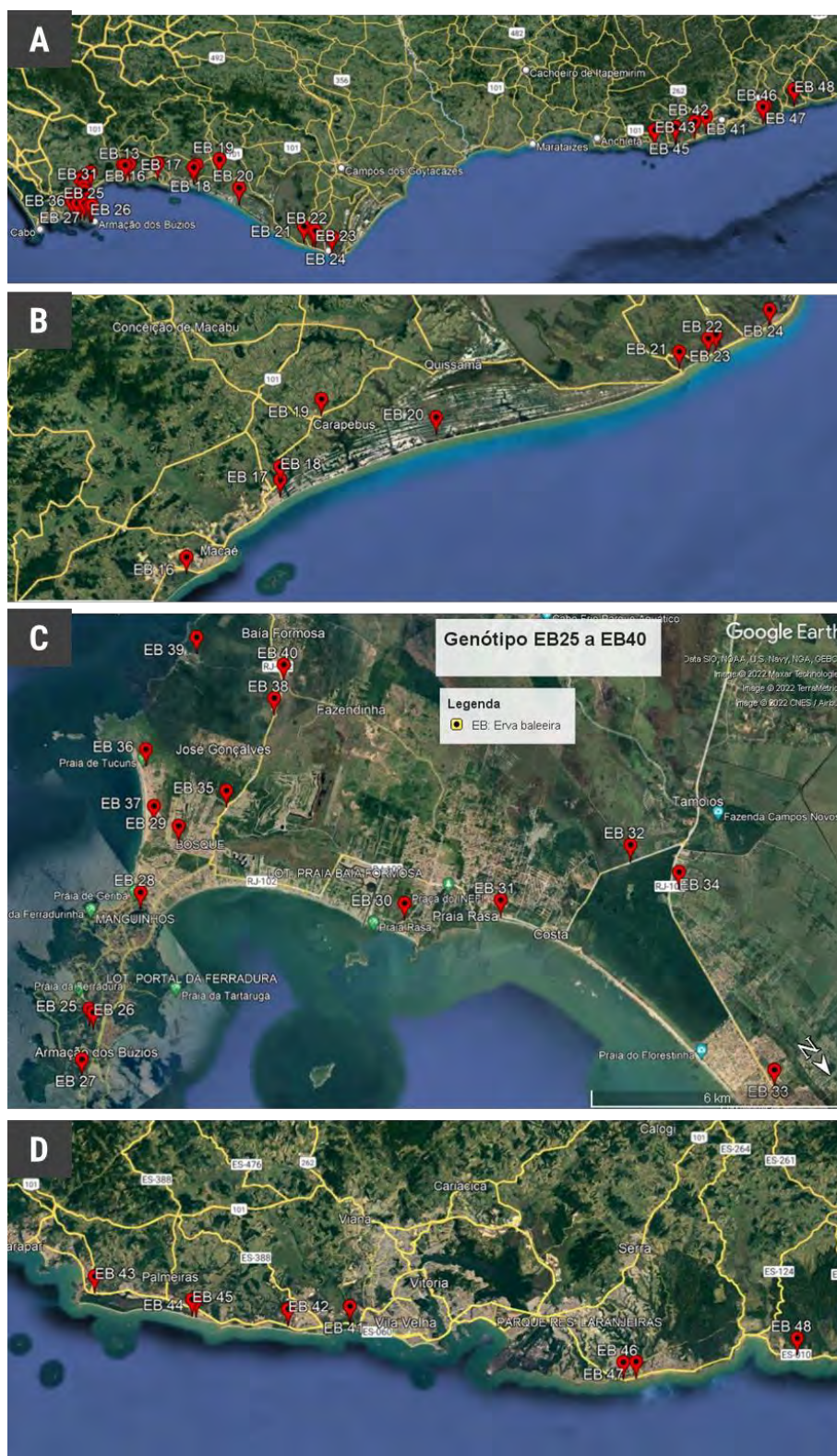
### 4. MATERIAIS E MÉTODOS.

#### 4.1 Regularização da atividade de pesquisa.

Realizou-se o cadastro eletrônico no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado – SisGen (certidão de autorização de nº A34C045, **Anexo 1**) e pedido de autorização para as atividades de campo e coleta junto ao Instituto Estadual do Meio Ambiente do Estado do Rio de Janeiro – INEA (autorização nº 046/2020, SEI-070002/006020/2020, código verificador 8762851 e CRC 0AE0F68F, **Anexo 2**), e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (autorização nº 75906-1, 13/10/2020 cod. aut. 0759060120201013, **Anexo 3**).

#### 4.2 Prospecção, identificação e coleta da erva-baleeira

A primeira prospecção foi realizada no município de Búzios e Cabo-Frio no dia 6 de outubro de 2017 e resultou na coleta de 16 indivíduos. A segunda prospecção ocorreu no litoral metropolitano do Espírito Santo no dia 23 de outubro de 2018, resultando na coleta de 8 plantas. A última prospecção foi realizada no dia 23 de outubro de 2020, no litoral norte do Rio de Janeiro, entre os municípios de Rio das Ostras e Campos dos Goytacazes, resultando na coleta de 12 indivíduos (**Anexo 4**), totalizando 36 indivíduos coletados (**Figura 18**). Não houve mistura dos indivíduos coletados numa mesma localidade, ou seja, as plantas coletadas pertenciam ao mesmo arbusto e todos os materiais coletados estavam em estágio vegetativo/reprodutivo, receberam uma sigla de acesso EB (Erva baleeira) e os locais de coleta foram identificados com as informações de latitude, longitude e descrição resumida do ambiente (**Tabela 1**).

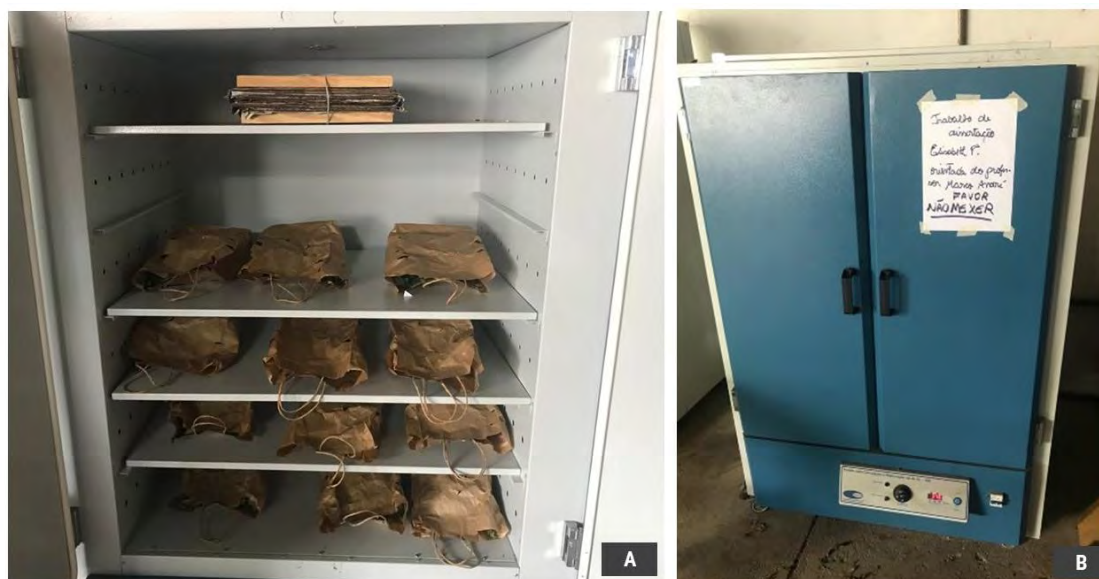


**Figura 18.** Locais de coleta de *Varronia curassavica* entre os anos de 2017 e 2020. Visão geral das coletas no Rio de Janeiro e Espírito Santo (A). Em detalhes, a localização das coletas dos indivíduos EB13 a EB24 no litoral norte do Rio de Janeiro, do município de Rio das Ostras até Campos dos Goytacazes (B), Indivíduo EB25 a EB40 na Região dos



Lagos, município de Cabo-Frio e Búzios (C) e indivíduo EB41 a EB48 no litoral metropolitano do Espírito Santo (D). Fonte: Adaptada Google Maps.

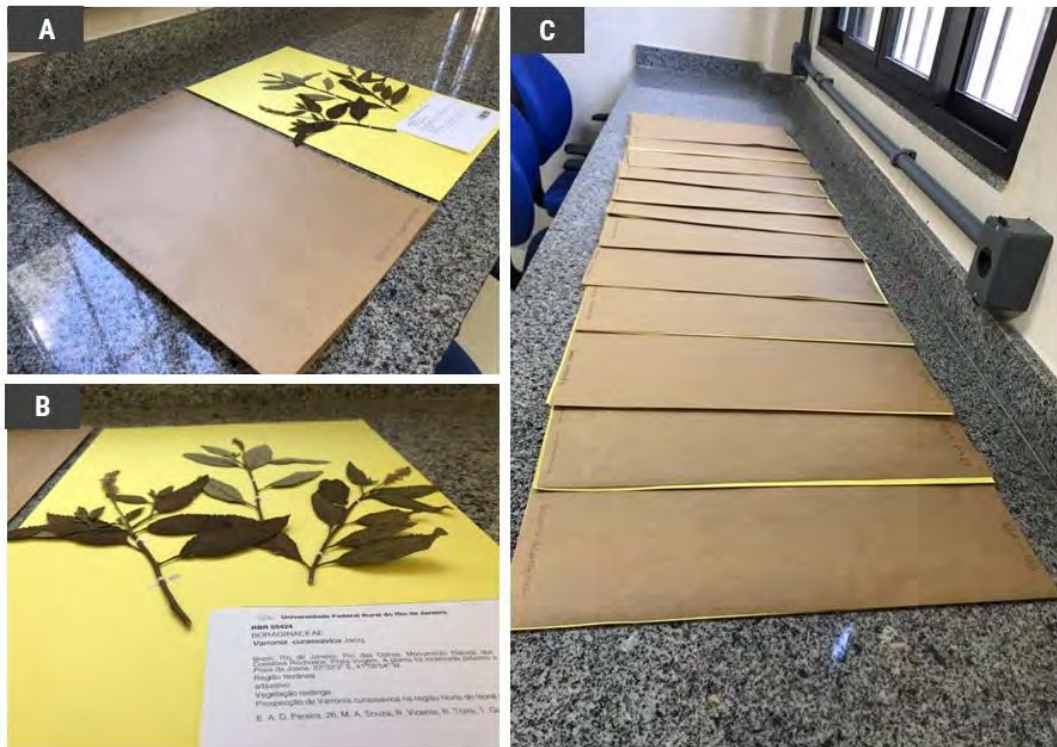
Foram coletados materiais da parte aérea, como ramos, folhas e frutos de cada indivíduo. Os ramos contendo flores e/ou frutos foram transportados por aproximadamente 24 horas, armazenados em sacolas de papel kraft e posteriormente levados ao herbário, para a preparação das exsicatas. As folhas destinadas a extração dos óleos essenciais foram secas em uma estufa com circulação e renovação de ar (modelo Solab/SL 102), durante dois dias dentro a 36°C (**Figura 19**). Os frutos foram despulpados e as sementes utilizadas para a produção de mudas.



**Figura 19.** Secagem do material vegetal em estufa com renovação de ar a 36°C. Detalhe dos ramos prensados para preparação das exsicatas e as folhas embaladas em sacos de papel Kraft (A). Detalhe da estufa Solab, modelo SL 102 (B). Fonte: Acervo pessoal (2020).

#### 4.3 Confeção e registro das exsicatas.

Para o preparo das exsicatas (exemplares das plantas coletadas), 3 ramos de erva baleeira foram separados e previamente desidratados para serem depositados no Herbário da UFRRJ (RBR-UFRRJ). O preparo das exsicatas se resumiu em 2 etapas: (1) Preenchimento da planilha eletrônica disponibilizada pelo site do próprio herbário, RBR-UFRRJ, para identificação dos diferentes indivíduos, cujo link disponível para o acesso: Jabot – Ferramenta pública de Validação de Planilha. ([jbrj.gov.br](http://jbrj.gov.br)). Após a validação da planilha de dados, foi gerado uma etiqueta de identificação com as informações fornecidas pelo depositante para cada amostra com o número de tombamento (registro) (**Tabela 1**). (2) Confeção das exsicatas, que consistiu na montagem da exsicata seguindo as instruções e recomendações do instrutor do Herbário (**Figura 20**).



**Figura 20.** Preparação para registro no Herbário RBR. Detalhe da exsicata montada de *Varronia curassavica* (A). Detalhe da exsicata com a ficha de identificação (B). Exsicatas de EB13 a EB24 no Herbário RBR, UFRRJ (C). Fonte: Acervo pessoal (2020).

**Tabela 1.** Relação das plantas de *Varronia curassavica* coletadas, identificadas e georreferenciada.

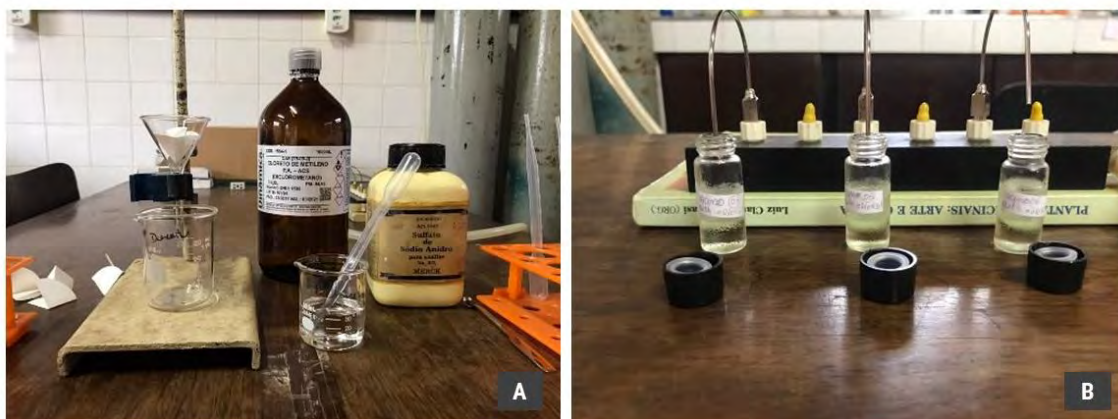
<b>Indivíduos</b>	<b>Município/Estado</b>	<b>Registro</b>	<b>Georreferenciamento</b>
EB13	Rio das Ostras/RJ	RBR 55425	22° 31' 37.75" S; 41° 55' 48.93" W
EB14	Rio das Ostras/RJ	RBR 55424	22° 32' 3.23" S; 41° 55' 54.16" W
EB15	Rio das Ostras/ RJ	RBR 55423	22 ° 30' 27.32" S; 41° 54' 52.90" W
EB16	Rio das Ostras/RJ	RBR 55422	22° 25' 1.84" S; 41° 49' 11.80" W
EB17	Macaé/RJ	RBR 55421	22° 17' 26.94" S; 41° 42' 30.56" W
EB18	Macaé/RJ	RBR 55420	22° 16' 54.37" S; 41° 42' 7.81" W
EB19	Carapebus/RJ	RBR 55419	22° 11' 17.86" S; 41° 38' 59.49" W
EB20	Quissamã/RJ	RBR 55418	22° 12' 6.14" S; 41° 29' 0.62" W
EB21	Quissamã/RJ	RBR 55417	22° 5' 27.49" S; 41° 8' 30.65" W
EB22	Campos dos Goytacazes/RJ	RBR 55416	22° 4' 13.44" S; 41° 6' 5.92" W
EB23	Campos dos Goytacazes/RJ	RBR 55415	22° 3' 51.67" S; 41° 5' 27.49" W
EB24	Campos dos Goytacazes/RJ	RBR 55414	22° 1' 32.27" S; 41° 0' 58.92" W
EB25	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44252	22° 45' 39" S; 41° 53' 8" W
EB26	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44251	22° 45' 35" S; 41° 53' 9" W
EB27	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44250	22° 45' 8" S; 41° 52' 41" W
EB28	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44249	22° 46' 31" S; 41° 54' 33" W
EB29	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44248	22° 45' 39" S; 41° 56' 47" W
EB30	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44247	22° 44' 51" S; 41° 57' 11" W
EB31	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44246	22° 43' 42" S; 41° 58' 40" W
EB32	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44245	22° 43' 18" S; 42° 0' 35.49" W
EB33	Cabo Frio/RJ	RBR 44244	22° 39' 53" S; 42° 0' 22" W
EB34	Cabo Frio/RJ	RBR 44243	22° 42' 39" S; 42° 0' 55" W
EB35	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44242	22° 46' 55" S; 41° 56' 27" W
EB36	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44241	22° 47' 58" S; 41° 55' 52" W
EB37	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44240	22° 47' 18" S; 41° 55' 30" W
EB38	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44239	22° 47' 32" S; 41° 57' 45" W
EB39	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44238	22° 48' 46" S; 41° 57' 22" W
EB40	Armação dos Búzios/RJ	RBR 44237	22° 47' 49" S; 41° 58' 8" W
EB41	Vila Velha/ES	RBR 44720	20° 24' 4.86" S; 40° 19' 29.36" W
EB42	Vila Velha/ES	RBR 44714	20° 27' 25" S; 40° 20' 27.88" W
EB43	Guarapari/ES	RBR 44716	20° 37' 7.4" S; 40° 25' 54.28" W
EB44	Guarapari/ES	RBR 44715	20° 32' 8.33" S; 40° 22' 40.05" W
EB45	Guarapari/ES	RBR 44722	20° 32' 20.35" S; 40° 22' 46.75" W
EB46	Serra/ES	RBR 44721	20° 10' 31.92" S; 40° 11' 17.28" W
EB47	Serra/ES	RBR 44724	20° 9' 50.6" S; 40° 11' 4.76" W
EB48	Fundão/ES	RBR 44723	20° 0' 52.15" S; 40° 9' 27.35" W

#### 4.4 Obtenção dos óleos essenciais e rendimento (% , m/m).

A extração de óleo essencial foi realizada no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais (LabPAM), provisoriamente, localizado no Setor de Grandes Culturas da UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro. Para a extração dos óleos essenciais foram utilizados



30 gramas de folhas secas, 500 mL de água destilada em um balão de fundo redondo de 1L e o método utilizado foi a hidrodestilação por duas horas com auxílio de um aparelho do tipo *Clevenger* modificado. O fluxo de vapor foi padronizado para uma vazão de 3,0 mL/m (três mililitros de destilado por minuto). Após a destilação o óleo foi separado por diferença de fase, a vidraria lavada com pequeno volume de diclorometano para recuperação do óleo essencial, a mistura foi filtrada, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro (**Figura 21A**) e o solvente eliminado com fluxo N<sub>2</sub> gasoso, até atingir a estabilidade de massa (**Figura 21B**).



**Figura 21.** Separação do óleo essencial. Detalhe para a filtração e secagem do óleo essencial com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro (A). Etapa de eliminação do solvente orgânico diclorometano com gás Nitrogênio (B). Fonte: Acervo pessoal (2020).

A massa foi expressa em porcentagem (% *m/m*), com auxílio da balança analítica (modelo Unibloccom AUW-320 Shimadzu) com precisão de 0,1 mg (0,0001g), com base na matéria seca livre de umidade. O teor de matéria seca (MS%), que é a massa seca livre de umidade, foi obtida da seguinte forma: primeiro, foi pesado 2 gramas de material seco contendo umidade, em seguida este material foi submetido a estufa a 101°C até alcançar a estabilidade de massa, que foi considerada a massa da amostra seca (m<sub>AS</sub>) e que permitiu calcular o teor de massa seca da amostra (MS%) com base na equação (A). Onde: MS% = teor de matéria seca (%); m<sub>AS</sub> = massa da amostra seca (g); m<sub>AU</sub> = massa da amostra contendo umidade (material utilizado no dia da extração do óleo essencial).

$$(A) \quad MS\% = (m_{AS}) * 100 / (m_{AU})$$

Em seguida foi possível calcular a matéria seca da amostra (MS<sub>A</sub>) vegetal utilizada na extração do óleo essencial, utilizando a equação (B). Onde: MS<sub>A</sub> = matéria seca da amostra utilizada na extração (g); m<sub>AUE</sub> = massa da amostra contendo a umidade utilizada na extração (g).

$$(B) \quad MS_A = (m_{AUE} * MS\%) / 100$$

Por fim, foi calculado o teor de óleo essencial com base na matéria seca (OE%<sub>MS</sub>) utilizando a equação (C), onde m<sub>OE</sub> = massa de óleo essencial.

$$(C) \quad OE\%_{MS} = m_{OE} * 100 / MS_A$$

#### 4.5 Análise dos óleos essenciais por CG-DIC e CG-EM.

As amostras foram analisadas em um *Cromatógrafo Gasoso 5890 Series II* (Hewlett-Packard, USA), equipado com um detector de ionização de chama em um injetor no modo “split” (1:20), que separou e quantificou os constituintes presentes no óleo essencial. As substâncias encontradas, foram separadas em uma coluna capilar de

sílica fundida, fase estacionária 5% fenil, 95% dimetilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm DI). O gás de arraste foi o Hélio, com o fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. A programação da temperatura da coluna foi de 50° C por 5 min, seguido por incremento de 3 °C min<sup>-1</sup> até 120 °C, seguido por incremento de 5° min<sup>-1</sup> até 250° e, finalmente, seguido por incremento de 15 °C min<sup>-1</sup> até 290 °C, mantidos por 20 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 e 290° C, respectivamente.

Um Cromatógrafo Gasosos – espectrômetro de massa QP-2010 Plus (Shimadzu, JPN) foi utilizado na separação e identificação das substâncias que fazem parte do óleo essencial. As temperaturas do injetor e de interface foram de 220 e 250 °C, respectivamente. O espectro de massa foi obtido em um detector quadrupolo que operou a 70 eV, com intervalo de massa entre 40 e 400 m<sup>z</sup><sup>-1</sup> e a razão de 0,5 scan s<sup>-1</sup>. A coluna e a programação foram as mesmas utilizadas para a análise CG-EM. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 e 310° C respectivamente e o volume de amostra injetado foi de 0,5 µmL, utilizando o diclorometano como solvente.

A identificação dos constituintes do óleo essencial foi realizada com base na comparação dos espectros de massa das substâncias de interesse com aquelas 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).

#### 4.6 Organização da matriz quantitativa.

Os dados quantitativos referentes a concentração de cada substância dos óleos essenciais dos 36 indivíduos de *V. curassavica* foram organizados em uma matriz de dados, permitindo então, realizar comparações entre os valores das variáveis analisadas (REIS & REIS, 2001). A matriz foi constituída por um total de 36 indivíduos distintos (linhas) e um total de 271 substâncias (colunas), onde 177 destas foram identificadas e 94 se caracterizaram como não identificadas (NI seguido do tempo de retenção) (**Anexo 5**).

Para a análise dos dados foram impostas algumas restrições com o objetivo de enfatizar as variáveis com maior contribuição na variância total dos dados, sendo elas: as substâncias com concentração igual ou superior a 5% em pelo menos um dos óleos essenciais e/ou com frequência (fr%) maior que 40%, ainda, com a retirada dos compostos que estavam coeluídos e os não identificados, totalizando cerca de 52 substâncias avaliadas.

#### 4.7 Caracterização dos quimiótipos.

Considerando que não existem regras que definem os quimiótipos, senão por uma análise subjetiva das substâncias majoritárias, optamos por fazer a distinção deles através de critérios próprios e com base na dominância de uma (A), duas (A-B) ou três (A-B-C) substâncias majoritárias em relação às demais, de acordo com a seguinte chave:

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

#### 4.8 Análises.

##### 4.8.1 Análise descritiva.

A verificação da distribuição da variação dos teores do óleo essencial dos 36 indivíduos, foi realizada através do gráfico de Box-plot, analisando quais eram os maiores e menores teores de cada região. Além disso, também foi observado como as concentrações dos principais sesquiterpenos,  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno, se comportaram dentro das 36 espécies coletadas. Além disso, foram elaboradas figura para análise visual (*chemoarrays* – modificado de ALVES et al. (2019) e SINGH et al. (2005)) que se baseava em barras coloridas, representando as 10 substâncias com maiores concentrações (>15%) e barras cinzas, representando as outras substâncias nos 36 diferentes acessos de *V. curassavica* coletados.

#### 4.8.2 Análise multivariada.

Inicialmente, os 36 indivíduos resultantes da prospecção (variáveis independentes) e 64 substâncias (variáveis dependentes) foram submetidas a uma normalização, dividindo-se o valor observado pelo desvio-padrão da variável correspondente, a fim de conduzir a um sistema de informação de dados com maior qualidade, robustez e confiabilidade (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2020).

A matriz de dados padronizados foi submetida à análise multivariada, utilizando o método de agrupamento da distância média (*Unweighted pair Group Method with Arithmetic mean*, UPGMA), que constrói um dendrograma que reflete a estrutura presente em uma matriz de similaridade pareada, utilizando como base a distância euclidiana. Para verificar o ajuste entre a matriz de distância (matriz fenética) e o dendrograma (matriz cofenética), foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (SOKAL; ROHLF, 1962) e para auxiliar na descoberta do número de grupos ótimos no dendrograma, foi considerado o método utilizado por Kelley et al., (1996).

As análises estatísticas de agrupamento hierárquico descritas acima foram realizadas no Programa R, versão 4.0.3 (2020-10-10), Copyright © 2020, The R Foundation for Statistical Computing. Já as análises de Componentes principais e Box-plot foram realizadas no programa estatístico Paleontological Statistics software package for education and data analysis— PAST, versão 4.10 (HAMMER et al, 2001).

### 4.9 Atividade antifúngica e inseticida do óleo essencial de *Varronia curassavica*.

#### 4.9.1 Materiais

O fungo *Pestalotia* sp. foi isolado do mamão (*Carica papaya* L.) no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais–LabPAM (**Figura 22A**), propagados em meio BDA (Batata, Dextrose e Agar) e as colônias incubadas em câmara com temperatura controlada (27°C). Os insetos adultos da espécie *Callosobruchus maculatus* (Fab.) foram cedidos pelo Dr. J.H.R. Santos Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. Desde então a colônia vem sendo mantida no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais (UFRRJ) com substrato feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), em ambiente controlado: fotoperíodo natural, temperatura de 29°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) e umidade relativa de 65% ( $\pm 5\%$ ). Os óleos essenciais utilizados nos testes biológicos foram obtidos após as coletas, conforme descrito no item 4.4 e armazenados a  $-15^\circ\text{C}$ , no Freezer.

#### 4.9.2 Preparo das soluções e análises para atividade antifúngica.

As soluções foram preparadas conforme descrito a seguir. Uma solução estoque foi preparada a partir de 0,050g de óleos essenciais diluídos em 2 mL de DMSO (dimetilsulfóxido), produzindo uma solução a 25 mg/mL. A partir da solução estoque foram preparadas outras três soluções em DMSO. As concentrações dos óleos essenciais nos meios de cultura foram de 0,5; 0,25; 0,125 e 0,0625 mg/mL. Uma solução de Folicur

diluída em DMSO foi preparada a 0,5 mg/mL como controle positivo. Para o ensaio, foi utilizado o método da diluição em meio de cultura BDA, que consistiu na diluição das soluções contendo os óleos essenciais (tratamentos), controle positivo (folicur), negativo (DMSO) e testemunha (somente BDA) no meio de cultura fundido (**Figura 22B**). Foram utilizadas 5 repetições para cada tratamento. Em seguida os meios de cultura foram vertidos para placas de Petri, em seguida, discos com 0,376 cm de diâmetro contendo estruturas propagativas do fungo *Pestalotia* sp. foram repicados para o centro das placas de Petri contendo os meios de cultura solidificados (**Figura 22C**). Depois, as placas foram lacradas com filme plástico e incubadas por 48 horas a 27°C.



**Figura 22.** Preparação dos ensaios para atividade fúngica. Separação do material fonte de estruturas propagativas do fungo *Pestalotia* sp. (A) Preparação da placa petri com as soluções (B). Colônia de fungo inoculada no centro da placa (C). Fonte: Acervo pessoal (2022).

Após o período de incubação, as placas foram digitalizadas (Scanner HP ScanJet G2410) e as imagens obtidas foram processadas no software Image J 1.53K USA, em seguida foram utilizadas as funções "set scale", "make binary", "wand (tracing) tool" e "measure" para a aquisição da área de crescimento do halo fúngico. Para o cálculo das estatísticas, o teste Tukey a 5% foi aplicado.

#### 4.9.3 Preparo das soluções para atividade inseticida e análises.

Uma solução estoque foi preparada a partir de 10 mg de óleos essenciais diluídos em 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (diclorometano), produzindo uma solução a 10 mg/mL. A partir da solução estoque foram preparadas outras quatro soluções, onde foi diluído 100 µL de cada solução formada em 1 mL de diclorometano. As concentrações formadas foram 10; 1; 0,1; 0,01 e 0,001 mg/mL. Para o ensaio também foi utilizado o controle negativo (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) e testemunha (sem tratamento) (**Figura 23**). Após o preparo das soluções, cerca de 200 µL de cada tratamento foram vertidos em discos de papel filtro, em seguida, os vinte insetos foram colocados no pote e eles foram vedados com papel do tipo para-filme. Após 48 horas foi contada a mortalidade dos insetos.





**Figura 23.** Teste de mortalidade por contato em papel de filtro contendo óleo essencial de *Varronia curassavica* contra insetos adultos de *Callosobruchus maculatus* (não sexados). Fonte: Acervo pessoal (2022).

#### 4.10 Avaliação da atividade tripanocida contra epimastigota de *Trypanosoma cruzi*.

Também foi realizado um teste antiparasitário. Esse teste foi realizado com o uso do óleo essencial da *V. curassavica* coletados no presente estudo, contra o protozoário *T. cruzi*. Esse experimento foi conduzido pelo Laboratório de Imunologia e Virologia Veterinária do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária do Instituto de Veterinária. Para os tratamentos com os óleos essenciais foram utilizados um representante de cada grupo formado e foram escolhidos aqueles com quantidades satisfatórias para o teste, que foram: EB45 do grupo 1 (G1), EB18 do grupo 2 (G2), EB38 do grupo 3 (G3), EB44 do grupo 4 (G4) e EB23 representante do grupo 5 (G5).

Para os ensaios de atividade antiparasitária se utilizaram a cepa Tulahuen C2C4-LacZ do parasito *Trypanosoma cruzi*, sendo avaliado na forma epimastigota. Os parasitos foram cultivados em meio LIT (*Liver Infusion Tryptose*), suplementado com hemina (25 mg/L) + 10% SFB, sendo encubadas a 28°C, realizando passagens sucessivas a cada 6-7 dias. Em uma placa de 96 poços transparentes, os parasitos na forma epimastigotas foram incubados por 7 dias na concentração de  $1 \times 10^6$  parasitos/mL em meio LIT suplementado com hemina (25 mg/L) e 10% de soro fetal bovino e volume final de 150  $\mu$ L/poço. O tratamento foi realizado com diluições seriadas dos óleos essenciais (concentrações de 19,2; 48; 120 e 300  $\mu$ g/mL) e utilizando como fármaco de referência o Benzonidazol (BZD), em triplicata. Triplicatas de parasitos sem tratamento (controle Vivo), tratadas com 0,5% v/v de DMSO (veículo) e sem parasitos (controle branco) serviram como controle do experimento. Após o período de incubação a placa foi centrifugada (1800 rpm por 10 min a 4 °C) e teve seu sobrenadante removido, em seguida foi adicionado aos poços 100  $\mu$ L de solução de PBS, seguido de 30  $\mu$ L 0,5 mM do substrato vermelho de clorofenol  $\beta$ -galactopiranosídeo (CPRG) em PBS, com 0,9% v/v Igepal CA-630. Após incubação por 1,5 h, a absorbância foi medida a  $\lambda = 570$  nm, com auxílio de um leitor de placas.

Tratamento estatístico de dados: Os dados de absorbância foram convertidos em valores de viabilidade relativa à média do controle veículo, descontados da média do controle branco, conforme a fórmula abaixo. Onde  $V$  (%) = Viabilidade em %,  $Abs$  = Leitura de absorbância em determinado poço,  $M_B$  = Média da absorbância da triplicata do Controle Branco,  $M_V$  = Média da absorbância da triplicata do Controle Veículo.

$$V (\%) = \frac{Abs - M_B}{M_V - M_B}$$

Os valores de percentuais foram inseridos no software GraphPad Prism 7, onde foram realizados os cálculos estatísticos e gerados os gráficos. Para os cálculos da concentração inibitória do crescimento em 50% (CI<sub>50%</sub>) foi utilizado o modelo padrão do software de regressão não linear de para valor de concentração de inibidor *versus* resposta normalizada com inclinação variável. Os resultados para os valores de CI<sub>50</sub> foram obtidos pela média de ao menos 3 experimentos independentes. Para os testes de significância estatística foi utilizada a análise de variância simples *one-way* ANOVA.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Teor de óleo essencial.

Na **Tabela 2** pode ser observado os teores (% , m/m) dos óleos essenciais de *Varronia curassavica* obtidos a partir de amostras de folhas de 36 indivíduos (plantas) coletadas em diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro e Espírito Santo, Brasil. Os teores dos óleos essenciais variaram de 0,34 a 4,20%.

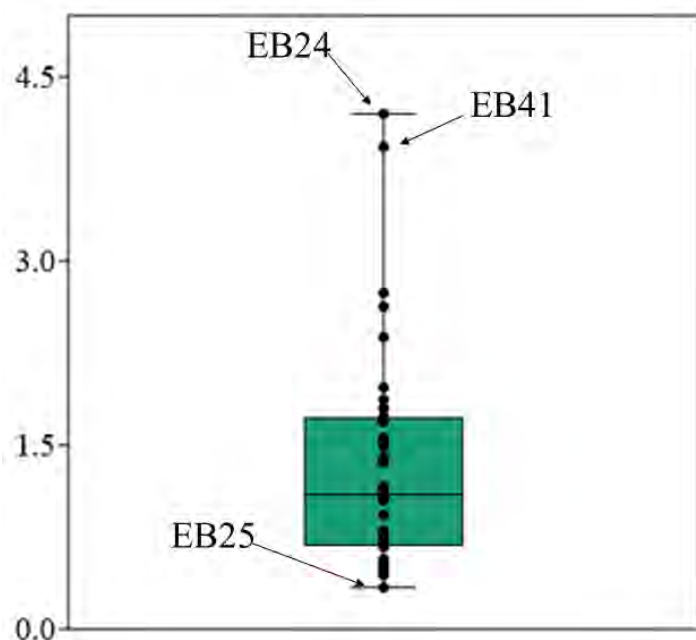
**Tabela 2.** Teor (% , m/m) de óleo essencial obtidos das folhas de *Varronia curassavica*.

Indivíduos	Município	(%) <sup>1</sup>	Indivíduos	Município	(%)
EB24	Campos <sup>2</sup>	4.20	EB14	Rio das Ostras	1.09
EB41	Vila Velha	3.93	EB16	Rio das Ostras	1.08
EB43	Guarapari	2.74	EB39	Búzios	1.05
EB26	Búzios <sup>3</sup>	2.63	EB47	Serra	0.93
EB22	Campos	2.38	EB30	Búzios	0.80
EB18	Macaé	1.97	EB37	Búzios	0.80
EB48	Fundão	1.87	EB40	Búzios	0.79
EB23	Campos	1.80	EB34	Cabo Frio	0.74
EB44	Guarapari	1.73	EB42	Vila Velha	0.70
EB32	Búzios	1.69	EB35	Búzios	0.68
EB20	Quissamã	1.56	EB31	Búzios	0.67
EB45	Guarapari	1.53	EB29	Búzios	0.57
EB21	Quissamã	1.48	EB15	Rio das Ostras	0.53
EB38	Búzios	1.39	EB33	Cabo Frio	0.51
EB17	Macaé	1.36	EB27	Búzios	0.48
EB19	Carapebus	1.16	EB46	Serra	0.47
EB28	Búzios	1.15	EB36	Búzios	0.44
EB13	Rio das Ostras	1.10	EB25	Búzios	0.34

<sup>1</sup>Teor (% , m/m) ; <sup>2</sup>Campos dos Goytacazes; <sup>3</sup>Armação de Búzios

Também foi investigado como se distribuiu a variação dos teores do óleo essencial ao longo dos 36 diferentes indivíduos (**Figura 24**). O maior teor de óleo essencial foi encontrado no indivíduo EB24 (4,20%) na região de Campos dos Goytacazes, seguido do indivíduo EB41 (3,93%) coletado em Vila Velha, Espírito Santo. O menor teor de óleo essencial, foi encontrado no indivíduo EB25 (0,34%), coletado em Armação de Búzios (**Tabela 2**).

Na **Figura 24** pode-se notar que a mediana e média para os teores de óleo essencial de *V. curassavica* foi de 1,09 e 1,39%, respectivamente. Pode-se observar também, que a metade do total de indivíduos coletados alcançou uma concentração acima de 1% e que pelo menos 25% dos indivíduos encontrados tinham uma concentração superior 1,5%, que corresponde aos indivíduos EB18, EB20, EB22, EB23, EB26, EB32, EB41, EB43, EB44 e EB45 (**Tabela 2**).



**Figura 24.** Teor de óleo essencial (%) das 36 plantas de *Varronia curassavica* descritos em box-plot.

## 5.2 Caracterização química do óleo essencial.

As análises químicas (CG-EM) dos óleos essenciais dos 36 indivíduos de *V. curassavica* foram realizadas e 271 compostos foram detectados por GC-MS, das quais cerca de 80% a 90% das substâncias foram identificadas, resultando em 177 substâncias conhecidas (**Anexo 5**). Desse total, foram realizadas duas restrições para selecionar aquelas substâncias que mais representaram a variação total dos dados, conforme previamente apresentado na metodologia (item 4.6). Então, uma nova matriz de dados foi originada, com cerca de 64 substâncias (**Tabela 3**).



**Tabela 3.** Principais substâncias encontradas nos óleos essenciais de *Varronia curassavica*.

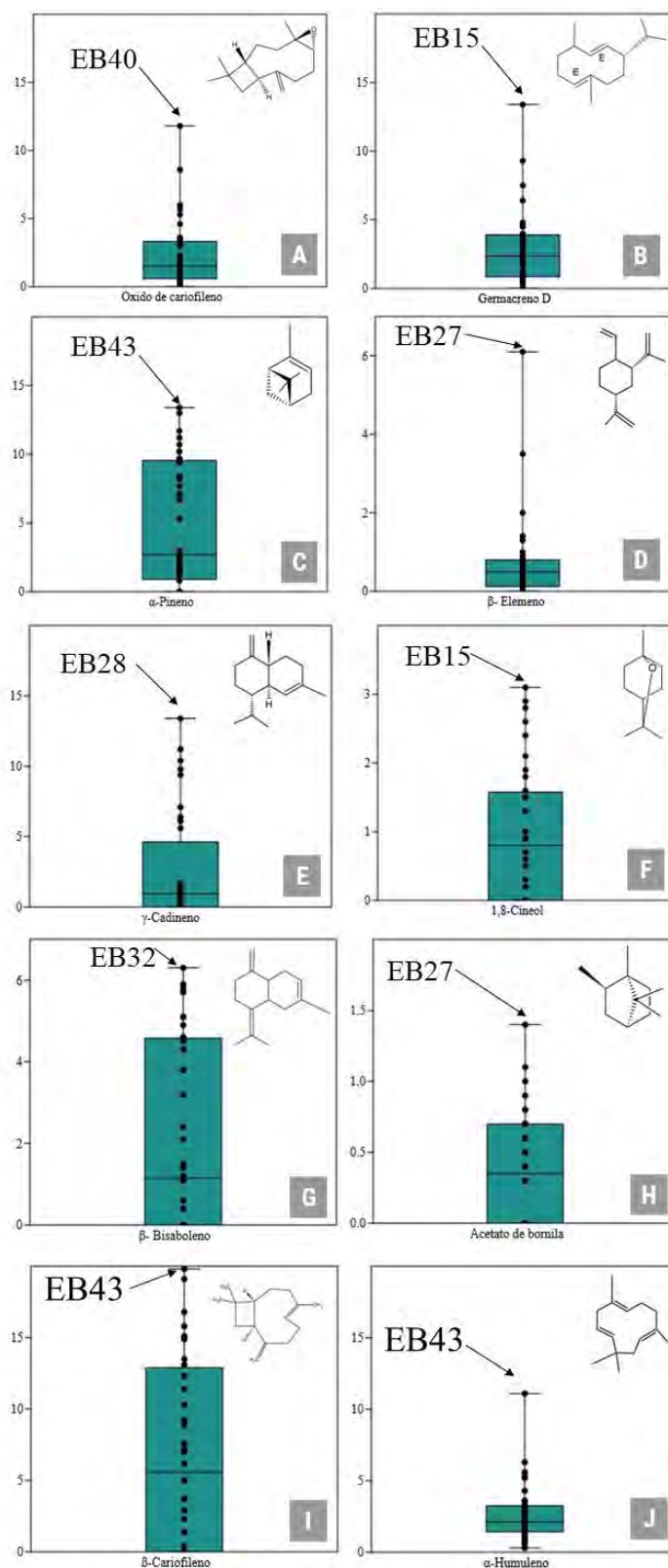
<b>Substâncias<sup>1</sup></b>	<b>Conc. (%) mín.– máx.<sup>2</sup></b>	<b>Ni<sup>3</sup></b>	<b>Fr(%)<sup>4</sup></b>
<i>α</i> -Humuleno	0,3–11,1	36	100
Óxido de cariofileno	0,2–11,8	33	92
Germacreno D	0,3–13,4	32	89
<i>α</i> -Pineno	0,8–13,4	28	78
<i>β</i> -Elemeno	0,1–6,1	28	78
<i>β</i> -Cariofileno	0,4–19,8	25*	69*
<i>γ</i> -Cadineno	0,3–13,4	24	67
1,8-Cineol	0,2–3,1	23	64
<i>β</i> - Bisaboleno	0,4–6,3	22	61
Acetato de bornila	0,3–1,4	21	58
<i>β</i> -Sesquifelandreno	0,3–1,3	20	56
Epóxido de Humuleno II	0,2–1,0	20	56
<i>α</i> -trans-Bergamoteno	0,1–6,2	19	53
Sabineno	0,2–2,2	19	53
<i>α</i> -Copaeno	0,2–4,2	18	50
(E)-Nerolidol	0,2–1,8	17	47
Mirceno	0,2–0,7	16	44
Biciclogermacreno	0,3–12,2	15	42
<i>α</i> -Cadinol	0,3–9,0	15	42
<i>α</i> -cis-Bergamoteno	0,3–3,5	15	42
<i>α</i> - <i>epi</i> -Cadinol	0,3–3,3	15	42
<i>α</i> -Muurolol	0,2–2,0	15	42
(Z)- <i>β</i> -Farneseno	0,3–1,8	15	42
1,10-di- <i>epi</i> -Cubenol	0,2–20,0	14	39
<i>α</i> -Tujeno	0,3–7,5	14	39
<i>δ</i> -Cadineno	0,2–7,4	14	39
Germacreno D-4-ol	0,4–17,3	13	36
(Z)- <i>α</i> -trans-Bergamotol	0,8–7,8	13	36
(Z)- <i>epi</i> - <i>β</i> -Santalol	0,6–8,7	12	33
(E)- <i>α</i> -Bergamotenal	2,3–8,0	12	33
<i>α</i> -Santaleno	13,2–22,0	11	31
(E)- <i>α</i> -Santalal	2,6–9,1	11	31
Carotol	0,3–9,1	11	31
Ledol	0,4–5,6	11	31
Hidrato de -trans- Sesquisabineno	0,9–6,2	10	28
Shyobunol	0,9–31,7	9	25
10- <i>epi</i> -Cubebol	1,6–5,3	9	25
9- <i>epi</i> - (E)-Cariofileno	0,8–9,6	8	22
Sesquisabineno	3,7–5,2	8	22
Dauca-5,8-Dieno	3,9–13,0	7	19
Triciclono	1,3–8,7	7	19
(2E,6E) -Farnesoato de Metilo	0,4–23,1	6	17
Elemol	0,2–16,7	6	17
Allo-aromadendreno	0,4–7,2	6	17
2,3-dihidro-Farnesol	0,7–23,7	5	14

**Tabela 3.** Continuação.

Cubebol	0,8–12,3	5	14
Acetato de cedrila	0,2–7,5	4	11
Farnesol <(2E,6Z) ->	1,5–32,9	2	6
Farnesol <(2Z,6E) ->	2,0–15,5	2	6
trans- $\beta$ -Guaieno	0,3–8,2	2	6
trans-Calameneno	0,6–7,0	2	6
$\gamma$ -Eudesmol	5,6	1	3

<sup>1</sup>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 36 acessos distintos de erva baleeira. Frequência <sup>3</sup>absoluta e <sup>4</sup>relativa. \* Dos 36 indivíduos coletados, o  $\beta$ -cariofileno apareceu em 25 amostras, porém no indivíduo EB45, foi identificado coeluído com outra substância.

Os óleos essenciais de *V. curassavica* estudados se mostraram ricos em terpenóides, sendo que as substâncias que apresentaram maior frequência ( $\geq 58\%$ ) foram os sesquiterpenos  $\alpha$ -Humuleno (100%), Óxido de cariofileno (92%), Germacreno D (89%),  $\beta$ -Elemeno (78%),  $\beta$ -Cariofileno (67%),  $\gamma$ -Cadineno (67%) e  $\beta$ -Bisaboleno (58%) e os monoterpenos  $\alpha$ -Pineno (78%); 1,8 Cineol (64%) e Acetato de Bornila (58%) (Tabela 3 e Figura 25).



**Figura 25.** Concentração de Óxido de cariofileno (A), Germacreno D (B),  $\alpha$ -Pineno (C),  $\beta$ -Elemeno (D),  $\gamma$ -Cadineno (E), 1,8-Cineol (F),  $\beta$ - Bisaboleno (G), Acetato de bornila (H),  $\beta$ -Cariofileno (I) e  $\alpha$ -Humuleno (J) nos óleos essenciais das 36 plantas de *Varronia curassavica*, descritos em box-plot a partir das substâncias com frequências  $\geq 58\%$ .

As concentrações de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno variaram de 0,3 a 11,1% e 0,4 a 19,8%, respectivamente. Os maiores teores de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno foram

encontrados no indivíduo EB43, do município de Guarapari-ES e os menores teores no indivíduo EB24, de Campos dos Goytacazes-RJ (**Figura 25**). Entretanto, o indivíduo EB24 foi o que apresentou maior teor de óleo essencial, enquanto o indivíduo EB43 maiores concentrações de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno.

Observou-se também, que a média das concentrações de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno foram de 2,7% e 9,9% respectivamente e que a mediana das concentrações de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno foram de 2,1% e 9,7% nesta ordem. Além disso, verificou-se que 50% das concentrações de  $\alpha$ -humuleno se encontraram acima de 2%, enquanto em 50% das concentrações de  $\beta$ -cariofileno, se encontraram acima de 5% (**Figura 25**).

Além dos compostos encontrados com alta frequência, também foram observados compostos com concentrações >15%, como: (2E,6Z)-Farnesol (32,9%); Shyobunol (31,7%); 2,3-dihidro-Farnesol (23,7%); (2E,6E)-Farnesoato de Metilo (23,1%);  $\alpha$ -Santaleno (22%); 1,10-di-*epi*-Cubebol (20%); Germacreno D-4-ol (17,3%); Elemol (16,7%) e (2Z,6E)-Farnesol (15,5%).

### 5.3 Avaliação dos quimiótipos e agrupamentos.

Considerando a proposta elaborada previamente pelo grupo de pesquisa com plantas aromáticas e medicinais (NASCIMENTO, 2021) para a classificação dos quimiótipos (item 4.7), foram encontrados apenas quatro tipos químicos diferentes entre as 36 amostras de óleo essencial estudada, sendo eles o Shyobunol/ Germacreno D (EB17); Shyobunol/ Cubebol/ Germacreno D (EB21); Shyobunol/  $\alpha$ -Santaleno/ Germacreno D (EB16) e Shyobunol (EB18). Nos demais indivíduos, os quimiótipos se caracterizaram como indefinidos ou mistos (**Tabela 4**).

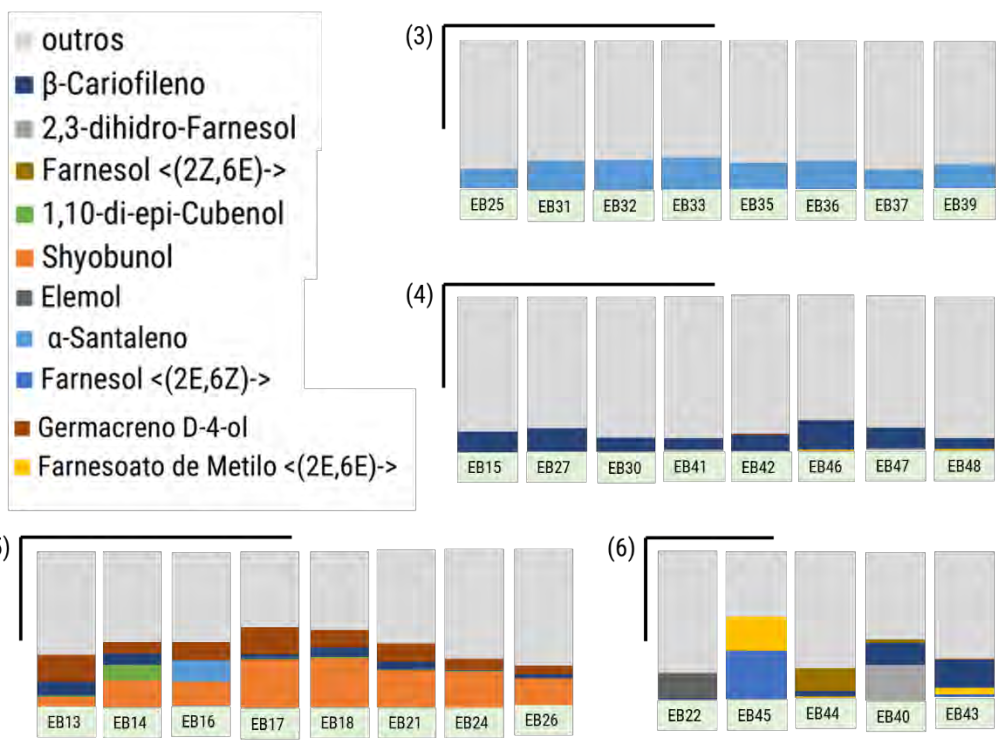
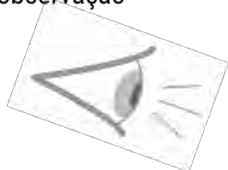
**Tabela 4.** Quimiótipos de *Varronia curassavica* com base na dominância entre as substâncias.

Quimiótipos*	Plantas EB
Shyobunol (31,7%)	18
Shyobunol, Germacreno D (30,9; 17,3%)	17
Shyobunol, Cubebol, Germacreno D (23,5; 12,3; 11,7%)	21
Shyobunol, $\alpha$ -Santaleno, Germacreno D (15; 14; 11,7%)	16
Indefinido ou misto	13, 14, 15, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48.

\*Critério de dominância descrito na metodologia.

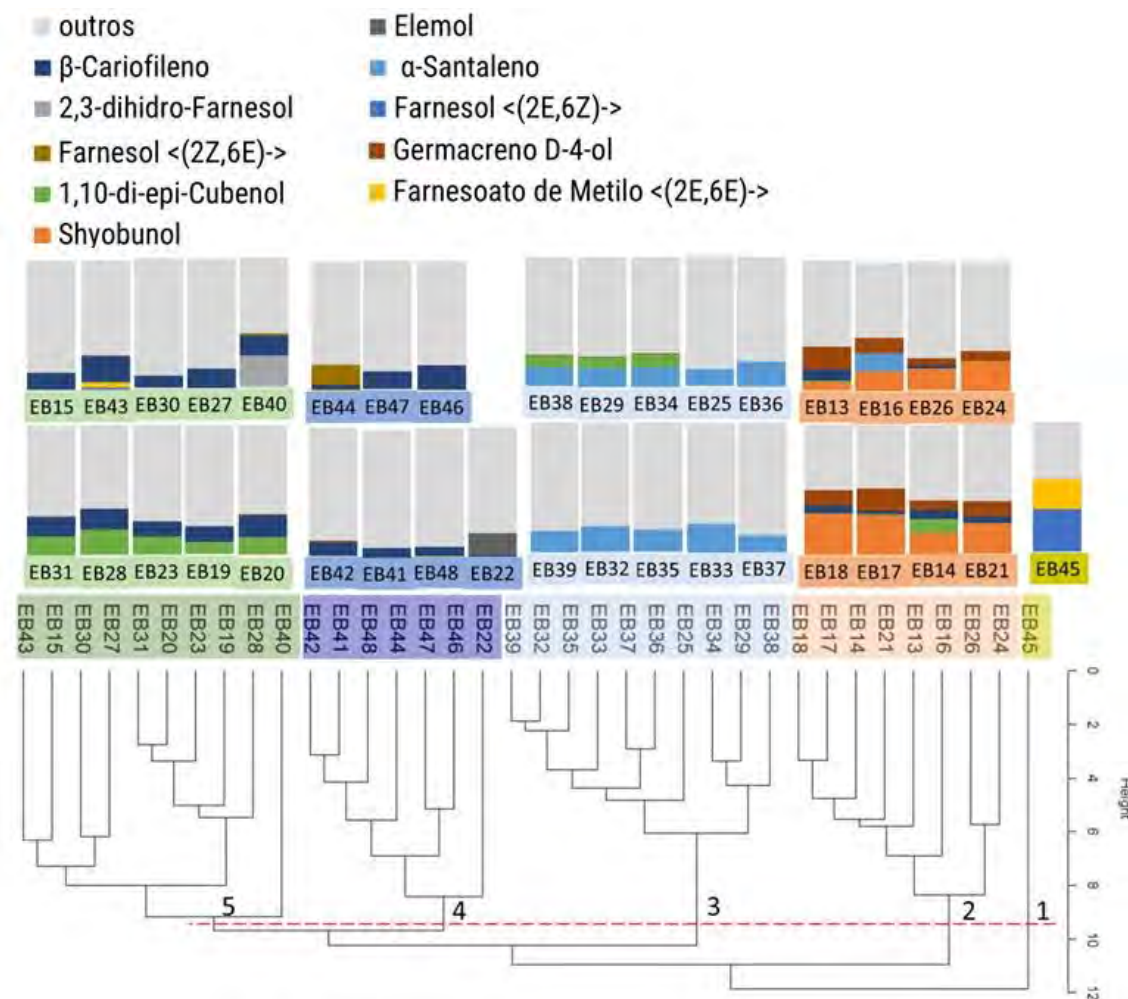
Além disso, foram construídas imagens retangulares (arranjos químicos) baseadas em diferentes cores, onde cada cor representa uma das 10 substâncias de maior concentração nos óleos essenciais (>15%), e isso permitiu uma análise visual discriminante quanto a qualidade do óleo essencial. A partir desta proposta foi possível agrupar por semelhança visual 5 grupos (de 1 a 5) e um sexto grupo (6) com 5 representantes que não apresentam homologia com os demais grupos e entre si (**Figura 26**).

Organização e agrupamento das imagens por observação



**Figura 26.** Agrupamento por análise visual dos arranjos químicos (chemoarrays). As cores representam as 10 substâncias com maiores concentrações (>15%).

Foi realizada uma análise de agrupamentos hierárquicos pelo método UPGMA, com base na distância euclidiana, gerando um dendrograma (Figura 27). O coeficiente de correlação cofenética resultou em uma alta correlação com 0,89%, a 1% de probabilidade pelo teste de Mantel.



**Figura 27.** Dendrograma de dissimilaridade genética (UPMGA) com base em 36 indivíduos de *Varronia curassavica* coletados na região litorânea do Rio de Janeiro e no Espírito Santo. A linha representa a região de corte para formação dos grupos (1-5) baseados no algoritmo de Kelley-Gardner-Sutcliffe.

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 dissemelhantes (**Figura 27**).

Com base na análise de agrupamentos hierárquicos observou-se a formação de cinco grupos que foram descritos de um a cinco: **grupo 1**) com apenas o EB45, indivíduo proveniente de Guarapari-ES que tinha principalmente o composto (2E, 6Z)-Farnesol (32,9%) na sua composição; **grupo 2**) formado pelos indivíduos EB13, EB14, EB16, EB17, EB18, EB21 e EB24, foram coletadas entre Rio das Ostras e Campos dos Goytacazes-RJ e EB26, que corresponde a Armação de Búzios, contendo Shyobunol e Germacreno D-4-ol no óleo essencial; **grupo 3**) foi formado de oito indivíduos, EB25, EB29, EB32, EB34, EB35, EB36, EB37 e EB38 da região dos Lagos e continha o  $\alpha$ -Santaleno (EB33-22,0%) como composto majoritário; **grupo 4**) foi composto por apenas sete acessos: EB22, EB41, EB42, EB44, EB46, EB47 e EB48, a substância em destaque nesse grupo foi o  $\beta$ -cariofileno (EB46-19,14%), exceto o acesso EB22, que teve como principal composto o Elemol (16,7%) e o EB44, que além do  $\beta$ -cariofileno, tinha o (2Z, 6E)-Farnesol em destaque (15,5%); e por fim, **grupo 5**) formado por 10 acessos, onde cinco acessos, EB19, EB20, EB23, EB28 e EB31 tiveram duas substâncias em destaque,

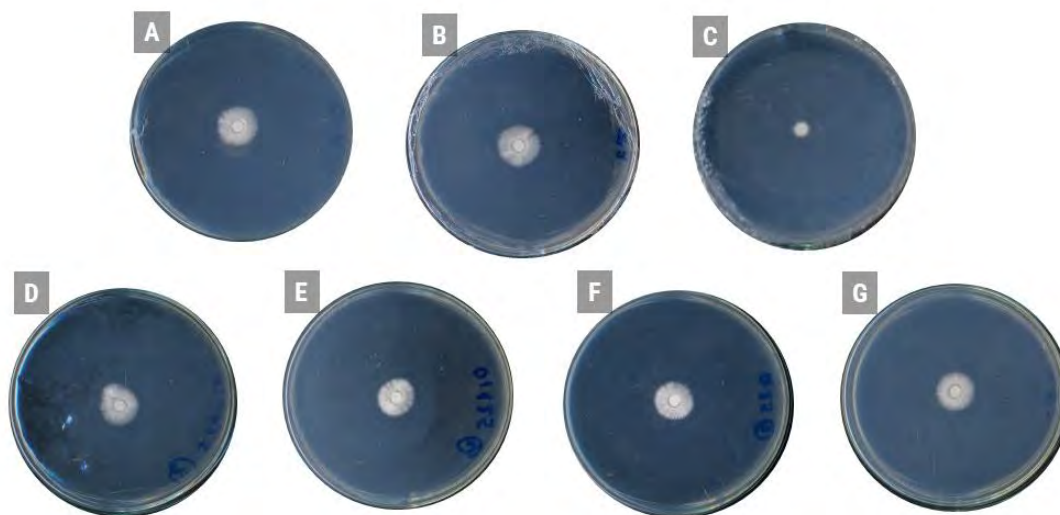


o  $\beta$ -cariofileno (EB28-15,8%) e o 1,10-di-epi-Cubenol (EB28-20%). Os outros cinco acessos, EB15, EB27, EB30, EB40 e EB43, tinham como principal substância o  $\beta$ -cariofileno, porém o EB40 tinha o 2,3-dihidro-Farnesol como destaque (23,7%) (**Figura 27**).

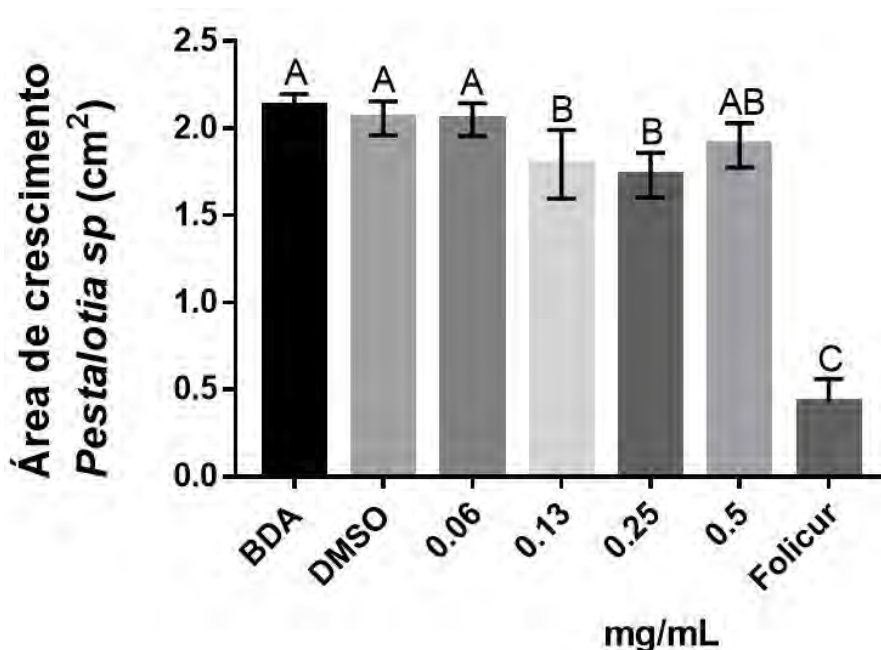
#### 5.4 Atividade biológica do óleo essencial de *Varronia curassavica*.

##### 5.4.1 Atividade fungicida contra *Pestalotia* sp.

O óleo essencial de *V. curassavica* EB45, foi testado em cinco concentrações diferentes contra o fungo *Pestalotia* sp, pelo método da diluição em meio nutritivo sólido BDA. Foi observada diferença significativa entre o Controle positivo (Folicur) e os demais tratamentos. Não houve diferença significativa entre a testemunha (BDA) e o Controle negativo (DMSO), porém constatou-se diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos de 0,25 e 0,125 mg/mL. Além disso, houve diferença significativa entre outros tratamentos, o tratamento de 0,06 mg/mL diferiu significativamente dos tratamentos de 0,25 e 0,125 mg/mL (**Figura 28 e 29**). Entretanto, apesar dos tratamentos terem resultados significativos, apresentaram uma atividade tóxica muito pequena.



**Figura 28.** Crescimento do fungo *Pestalotia* sp. sob efeito de diferentes tratamentos. Testemunha (A); controle negativo (-) (B); Controle positivo (+) (C); Tratamento nas concentrações 0,06; 0,13; 0,25 e 0,50 mg/mL de óleo essencial de *Varronia curassavica* (respectivamente D-G).



**Figura 29.** Crescimento fúngico (cm<sup>2</sup>) sob efeito do óleo essencial de *Varronia curassavica*.

#### 5.4.2 Atividade inseticida contra o *Callosobruchus maculatus*.

Os óleos essenciais utilizados nesse experimento foram o EB18 e EB45, que são representantes do estado do Rio de Janeiro e do Espírito Santo respectivamente. Os compostos majoritários presentes nesses acessos foram o Shyobunol (EB18) e (2E, 6Z)-Farnesol (EB45) e após as 48 horas de contato dos insetos com os tratamentos foi possível observar, que todos os insetos estavam vivos, ou seja, o óleo essencial de *V. curassavica* não provocou mortalidade nos insetos, logo, não observamos atividade biológica nas concentrações testadas.

#### 5.4.3 Atividade tripanocida contra *Trypanosoma cruzi*.

Neste estudo foi realizada apenas uma etapa, a de triagem inicial, com os óleos essenciais representantes de cada grupo. Foi avaliado se os óleos essenciais de *V. curassavica* possuíam atividade tripanocida em diferentes concentrações (19,2; 48; 120 e 300 µg/mL) sobre a forma epimastigota de *T. cruzi*. Nesse sentido, estimou-se a CI<sub>50%</sub> para verificar se o óleo essencial testado possuía a capacidade de inibir o processo biológico da forma epimastigota de *T. cruzi* em 50% da quantidade inicial nas concentrações testadas. Observou-se que dentre os 5 representantes de óleos essenciais (OEs) testados, os mais eficazes, ou seja, aqueles com concentrações abaixo de 300 µg/mL, foram o EB45 (grupo 1), EB18 (grupo 2) e EB44 (grupo 3) com valores de CI<sub>50%</sub> de 74,58; 101,4 e 129,6 µg/mL respectivamente (**Tabela 5**).

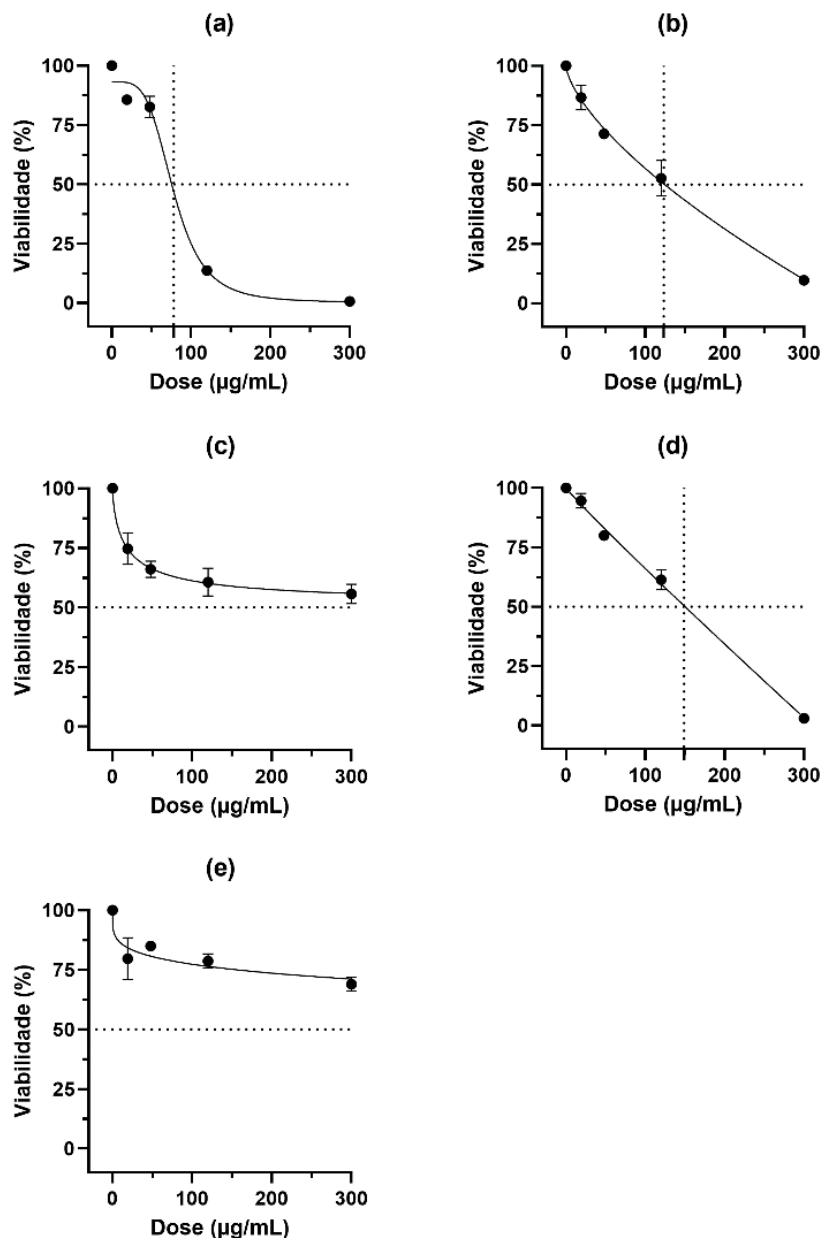
**Tabela 5.** Atividade tripanocida dos óleos essenciais de *Varronia curassavica* e substâncias majoritárias presente em cada representante.

Amostras Testadas	Grupo	Substâncias	CI <sub>50%</sub> (µg/mL)	Desvio padrão
EB45	1	(2E,6Z)-Farnesol, (2E,6E)-Farnesoato de Metila, α-Santaleno+β-Cariofileno*	74,58	4,78
EB18	2	Shyobunol, Germacreno D-4-ol, Biciclogermacreno, β-Cariofileno e α-cadinol	101,4	12,01

EB38	3	$\alpha$ -Santaleno, $\alpha$ -Pinoeno, 1,10-di- <i>epi</i> -cubenol e $\gamma$ -Cadineno	>300	-
EB44	4	(2Z,6E)-Farnesol, Dauca-5,8-dieno, Carotol, $\beta$ -Santaleno+Cadina* e $\beta$ -Humuleno+6,9-Guaiadieno*	129,6	2,96
EB23	5	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol, $\beta$ -cariofileno, $\gamma$ -Cadineno e $\alpha$ -Tujeno	>300	-
BZND	-	Controle positivo	6,375 $\mu$ M	0,34

\* coeluição de substâncias na coluna cromatográfica.

Também foi calculada a viabilidade relativa dos representantes que apresentaram  $CI_{50\%}$  abaixo de 300  $\mu$ g/mL e notou-se que em G1-EB45, na concentração de 300  $\mu$ g/mL, as formas epimastigotas se mostraram inviáveis, uma vez que a taxa de viabilidade foi igual a zero. Também foi observado que uma concentração de 118,56  $\mu$ g/mL provocaria cerca de 80% de inibição dessas formas epimastigotas (**Figura 30**). Já em G2-EB18 e G4-EB44, ainda foi observado a possibilidade da viabilidade para as formas epimastigotas nas concentrações acima de 300  $\mu$ g/mL, o que indica que nesses dois outros representantes, não houve a inibição total dos protozoários na maior concentração testada (**Figura 30**).



**Figura 30.** Atividade e viabilidade das formas epimastigotas de *T. cruzi* testadas com os óleos essenciais de *Varronia curassavica*, onde foram testados um representante de cada grupo. O Grupo 1 teve como representante apenas o indivíduo presente no grupo, o EB45 (A), o Grupo 2 o óleo essencial do indivíduo EB18 (B), o Grupo 3 foi representado pelo EB38 (C), o Grupo 4, com o óleo essencial do EB44 (D) e por fim o Grupo 5, teve como representante o EB23 (E).

## 6. DISCUSSÃO.

Realizamos no presente estudo a caracterização química de 36 acessos de *V. curassavica* coletados nas regiões do litoral do Rio de Janeiro e Espírito Santo, objetivando compreender a diversidade química da espécie em seu ambiente natural. Os resultados encontrados, apontaram uma ampla variação no teor de óleo essencial dentro de uma mesma espécie, indicando possivelmente qual o potencial de produção do teor de óleo essencial de um indivíduo em sua respectiva região. Isso já era o esperado,

considerando que são indivíduos diferentes crescendo em ambientes diferentes. Essa faixa de variação pode ser possivelmente explicada pela interação entre o genótipo e o ambiente, uma vez que essa interação é capaz de modular as composições do rendimento do óleo essencial (YAMAMOTO, 2006).

Resultados semelhantes foram encontrados por Marques et al., (2019), que constataram uma variação de 0,44 a 2,74% de teores de três diferentes acessos do óleo essencial de erva baleeira de. Queiroz et al. (2019) com objetivo de estudar a diversidade química de 10 acessos de *V. curassavica*, notaram que os rendimentos dos óleos essenciais variaram de 0,1 a 1,22% e Nascimento (2021) objetivando analisar a diversidade química dos óleos essenciais de 11 acessos de erva baleeira coletadas em diferentes localidades da região dos Lagos (RJ), observou uma variação de 0,4 a 4,2% de rendimento de óleo essencial.

Em outras regiões do Brasil também foram observados uma grande variação nos teores de óleo essencial de erva baleeira. Santos et al. (2006) encontraram um rendimento de 0,13% do óleo essencial de erva baleeira na região Nordeste (Ceará). Também no Nordeste, em Sergipe, Nascimento et al. (2018) encontraram um teor de 3,20% de óleo essencial de erva baleeira. Já em São Paulo, região Sudeste do Brasil, Vaz et al. (2006) observou uma variação no teor de óleo essencial de 0,10 a 0,20%. Gilbert e Favoreto (2012) encontraram um teor de óleo essencial de 0,23% na cidade de Montes Claros, Minas Gerais, bem como Queiroz et al. (2016) que presenciaram rendimentos de óleo essencial variando de 1,13 a 1,36%, também com plantas coletadas em Minas Gerais. Portanto, os resultados do presente estudo apontam para uma grande amplitude no teor de óleo essencial para as plantas estudadas e essa observação está de acordo com a literatura consultada para plantas de erva baleeira cultivadas ou coletadas em diferentes regiões do Brasil.

Também foi observado uma grande diversidade para o perfil químico com base em 36 amostras de óleo essencial de erva baleeira analisadas neste estudo. Foram detectadas 271 substâncias diferentes, 177 foram devidamente identificadas (**Anexo 5**) e cerca 64 substâncias que mais contribuíram com a variância total dos dados foram utilizadas para as análises descritivas e multivariadas. As principais substâncias encontradas nos óleos essenciais de *V. curassavica* no presente estudo também foram relatadas em outros trabalhos (NASCIMENTO, 2021; PRADO, 2020; QUEIROZ et al., 2016). Por exemplo, os compostos  $\alpha$ -Pineno, Alloaromadendreno,  $\beta$ -Cariofileno e Bicyclgermacreno (GOMES, 2010) e Germacreno D-4-ol,  $\alpha$ -Santaleno, Shyobunol (NASCIMENTO et al., 2018; OLIVEIRA, 2019).

A substância  $\alpha$ -humuleno é considerada o marcador químico do óleo essencial de erva-baleeira (BRANDÃO et al., 2017) também o princípio ativo relacionado como responsável pela atividade anti-inflamatória do óleo essencial (EL TOGHLOBI et al., 2022). Mais recentemente  $\beta$ -cariofileno também foi relatado como substância com propriedades anti-inflamatória e antialérgica (PASSOS et al., 2007). Devido a importância dessas duas substâncias, foi realizado o estudo descritivo e as concentrações de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno variaram bastante no presente trabalho. Do mesmo modo, outros autores relataram essa amplitude. Por exemplo, Fernandes et al. (2022) encontraram teores de  $\alpha$ -humuleno variando de 1,0 a 3,8% e  $\beta$ -cariofileno de 8,9 a 37,3%; Tonial et al. (2020) relatou variação de  $\alpha$ -humuleno de 3,0 a 3,37% e  $\beta$ -cariofileno de 19,4 a 22,1%.

No presente trabalho, a planta que apresentou maior concentração de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno foi EB43, coletado em Guarapari-ES, enquanto o maior teor de óleo essencial foi o obtido da planta EB24, coletado em Campos dos Goytacazes-RJ. Neste

caso, estas são plantas interessantes para serem incluídas em uma coleção *ex situ* com a finalidade de se obter informações sobre teor e produção de óleo essencial, assim como as concentrações  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno.

Existe na literatura a definição dos óleos essenciais com referência a espécie/variedade de origem e ao tipo químico, ou mais comumente denominado de quimiótipo e isto pode ser observado nas normas ISO (Organização Internacional de Normatizações). Os quimiótipos discriminam plantas que apresentam variações pronunciadas no perfil químico dos óleos essenciais dentro de uma mesma espécie (variação química intraespecífica). Entretanto, não existe uma norma específica para a classificação de quimiótipos.

Por este motivo, classificamos os quimiótipos de erva-baleeira com base na dominância entre as substâncias químicas das amostras analisadas (NASCIMENTO, 2021). Observamos a presença dos seguintes quimiótipos que igualmente foram relatados em outros trabalhos ou não (**Tabela 4**). Também com o objetivo de entender a diversidade no perfil químico dos óleos essenciais propusemos a análise de imagens e agrupamentos hierárquicos que reuniu por similaridade cinco grupos (**Figura 27**). Por outro lado, análise das imagens como proposta na **Figura 26** permitiu a distinção de 6 grupos diferentes. Apesar de haver semelhança entre a análise visual das imagens e a de agrupamentos, esta última foi baseada em 64 substâncias enquanto a primeira somente em 10 substâncias, isso se refletiu em um melhor agrupamento.

Brandão et al. (2015) verificaram por meio de análise de agrupamentos hierárquicos a formação de 3 grupos principais em uma amostra com 10 acessos de erva baleeira, revelando também a diversidade química na composição desse óleo. Além da ampla diversidade no perfil químico, Oliveira (2019) relatou a formação de cinco grupos, entre os quais quatro deles contendo majoritariamente as substâncias Shyobunol e Germacreno D-4-ol. O composto Shyobunol também se destacou neste trabalho e com presença majoritária em todos os quimiótipos que se apresentaram como definidos. Nizio (2015) analisou cinco populações e encontrou diversas outras substâncias majoritárias, incluindo o quimiótipo Shyobunol (24%).

Observamos que apesar do composto  $\alpha$ -humuleno ser considerado um marcador químico da espécie (EL TOGHLOBI et al., 2022c), ele não foi relatado em nenhum trabalho, incluindo este trabalho, como uma substância majoritária. O mesmo foi observado para a substância  $\beta$ -cariofileno.

O óleo essencial da planta EB45, cuja substância majoritária é a (2E, 6Z)-Farnesol, foi utilizado para avaliar a atividade tóxica frente ao fungo *Pestalotia* sp. e ao inseto *Callosobruchus maculatus*. Os resultados apresentaram baixa ou nenhuma toxicidade. Apesar disto, estudos recentes demonstraram que a molécula Farnesol, é um composto que tem um potente efeito antifúngico, sozinho, ou em combinação com outros antifúngicos, pois causa estresse oxidativo, reduz a sobrevivência fúngica e está envolvida na inibição da formação de hifas (JAKAB et al., 2021).

Entretanto, testamos um óleo essencial representante de cada grupo (**Figura 30**) contra a forma epimastigota do agente etiológico *T. cruzi* e a resposta foi satisfatória para três óleos essenciais. Na triagem inicial, verificamos que apenas os grupos G1, G2 e G4, apresentaram CI<sub>50%</sub> clinicamente relevantes uma vez que as concentrações apresentadas foram abaixo de 300  $\mu$ g/mL (AZEREDO, 2013; PEREIRA et al., 2021).

A concentração inibitória mais eficaz foi o do óleo essencial da planta EB45 (grupo 1), com 74,58  $\mu$ g/mL. São achados valores semelhantes ou até menores em outros óleos essenciais de outras espécies testadas contra a forma epimastigota. Santoro et al. (2007) testaram a eficiência dos óleos essenciais de cravo-da-índia, manjerição e milefólio contra as formas epimastigotas de *T. cruzi* e o óleo mais eficaz foi o do cravo-



da Índia com  $CI_{50\%}$  de 99,5  $\mu\text{g/mL}$ . Moreno et al. (2018) verificaram  $CI_{50\%}$  de 13,6  $\mu\text{g/mL}$  de óleo essencial de *Lippia alba* (quimiótipo Citral e Óxido de cariofileno) contra as formas epimastigotas de *T. cruzi*.

As substâncias majoritárias encontradas nos óleos essenciais que apresentaram menores  $CI_{50\%}$  foram (2E,6Z)-Farnesol, (2E,6E)-Farnesoato de Metila,  $\alpha$ -Santaleno +  $\beta$ -Cariofileno (coeluição) e  $\alpha$ -Pinoeno no óleo essencial EB45 (grupo 1); Shyobunol, Germacreno D-4-ol, Bicyclgermacreno,  $\beta$ -Cariofileno e  $\alpha$ -cadinol no óleo essencial EB18 (grupo 2) e (2Z,6E)-Farnesol, Dauca-5,8-dieno, Carotol,  $\beta$ -Santaleno+Cadina (coeluição) e  $\beta$ -Humuleno + 6,9-Guaiadieno (coeluição) no óleo essencial EB44 (grupo 4).

Os óleos essenciais em geral, podem causar danos as mitocôndrias dos organismos e induzir apoptose em parasitos e alguns estudos apontam a atividade de alguns compostos que estão presentes nos óleos essenciais testados, como  $\alpha$ -Pinoeno e  $\beta$ -Cariofileno, com ação tripanocida contra *T. cruzi* (SOBRAL-SOUZA et al., 2014; PEREIRA et al., 2021). Silva et al. (2013) investigaram a ação tripanocida dos óleos essenciais das folhas de *Xylopiya frutescens* e de dois exemplares de *Xylopiya laevigata* e observaram ação tripanocida e relacionaram a atividade aos compostos majoritários  $\beta$ -Cariofileno, Germacreno D e Bicyclgermacreno. Santoro et al. (2007) investigaram o efeito do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) e *Thymus vulgaris* L. (tomilho) e observaram que o óleo essencial de orégano inibiu o crescimento das formas epimastigotas na concentração de 175  $\mu\text{g/mL}$ , semelhantes ao do presente estudo, e indução de lise tripomastigota. Também observaram que óleo essencial de tomilho apresentou valores de 77  $\mu\text{g/mL}$  para as formas epimastigotas e 38  $\mu\text{g/mL}$  para as tripomastigotas. Os compostos majoritários encontrados por esse autor foram o timol (tomilho) e o 3-ciclohen-1-ol (orégano).

Apenas um trabalho, além do nosso, investigando o efeito tripanocida do óleo essencial de erva baleeira foi encontrado na literatura. Pereira et al. (2021), com objetivo de verificar a citotoxicidade do óleo essencial, o potencial leishmanicida e tripanocida de *Varronia curassavica in vitro*, observou que o óleo essencial tinha como compostos majoritários o  $\alpha$ -pinoeno e  $\beta$ -cariofileno, além disso, o óleo essencial teve uma potente atividade antitripanossoma em concentrações a partir de 62,5  $\mu\text{g/mL}$ , semelhantes ao do presente estudo, onde foram consideradas clinicamente relevantes, uma vez que a letalidade parasitária ocorreu em baixas concentrações.

## 7. CONCLUSÃO.

A partir do presente estudo, com base nas 36 amostras de folhas de *V. curassavica* coletados *in situ*, pode-se concluir que, o teor (%) médio de óleo essencial na população foi de 1,39% e que a concentração média de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno foram 2,7 e 9,9% respectivamente, sendo o indivíduo EB24, aquele que apresentou maior teor de óleo essencial (4,2%), entretanto, apresentou menor teor de  $\alpha$ -humuleno (0,3 %) e  $\beta$ -cariofileno (0,4%).

O  $\alpha$ -humuleno foi a única substância presente em 100% dos óleos essenciais estudados, sendo que o indivíduo que apresentou maior teor de  $\alpha$ -humuleno (11,1%) foi o EB43, o mesmo indivíduo que apresentou o maior teor de  $\beta$ -cariofileno (19,8%).

A análise de agrupamentos hierárquicos distinguiu cinco grupos e a observação por imagem permitiu distinguir seis grupos. No dendrograma de dissimilaridade gerado, comparado a análise visual em barras (**Figura 27**), pôde se observar associação da composição química e a região em que os indivíduos se encontravam. No grupo dois por

exemplo, foi destacado que, todos os quimiótipos classificados estavam presentes nesse grupo com compostos ricos em Shyobunol. Além disso, no grupo três foi possível observar que houve o agrupamento de apenas indivíduos da região dos Lagos, com a presença do composto majoritário  $\alpha$ -Santalol, indicando uma possível característica do perfil químico das plantas daquela localidade.

Por fim, identificamos que a nossa pesquisa é bastante importante quanto a exploração do potencial biotecnológico do óleo essencial de *Varronia curassavica*, quando se trata dos testes deles contra o agente etiológico *T. cruzi*, uma vez que nosso óleo essencial também teve atividade tripanocida com possíveis substâncias majoritárias de erva baleeira envolvidas nessa ação e que não estão presentes na literatura.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.

Recomenda-se a construção de uma coleção de germoplasma na UFRRJ a fim de se fazer estudo *ex situ* a partir de sementes das plantas de *V. curassavica* para obtenção de mais informações a respeito da espécie, visando seleção das espécies com maior rendimento e produção de óleos essenciais, teores de alfa-humuleno e beta-cariofileno elevados e estabilidade na produção e qualidade química. Além disso, explorar o potencial dos óleos essenciais com potencial tripanocida, e dar sequência nos estudos nas outras formas de *T. cruzi*, forma amastigota e tripomastigota que estão associadas com mamíferos.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Acheflan - Creme – Aché.** Disponível em: <<https://www.ache.com.br/produto/sob-prescricao/acheflan-creme/#bula-bula-paciente-acheflan-creme>>. Acesso em: 22 jan. 2022.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy.** v. 4.1. 2017.
- ALVES, N. A.; MACIEL, M. V.; CÂMARA, R. B. G. Levantamento de plantas medicinais com atividade anti trypanosoma cruzi. p. 1–20, 2020.
- ALVES, E.; SANTOS, B.; MATIAS, E. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DA FRAÇÃO HEXÂNICA DO EXTRATO HEXÂNICO DE CORDIA VERBENACEA DC. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 5, p. 1–88, 2014a.
- ALVES, E.; SANTOS, B.; MATIAS, E. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DA FRAÇÃO HEXÂNICA DO EXTRATO HEXÂNICO DE CORDIA VERBENACEA DC. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 5, 19 nov. 2014b.
- ALVES, M. DE S. et al. Efficacy of lemongrass essential oil and citral in controlling *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae), a post-harvest cowpea insect pest. **Crop Protection**, v. 119, p. 191–196, 1 maio 2019.
- ALVES, M. S. et al. Essential Oils composition and toxicity tested by fumigation against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) pest of stored cowpea. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2387–2399, 1 nov. 2015.
- ANVISA. Formulário de Fitoterápicos. 2021.
- ARGOLO, A. M. FELIX, M.; PACHECO, R.; COSTA, J. Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil. Imperial Novo Milênio: Fundação Oswaldo Cruz: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, 2008. 67p.
- APAM- **Diagnóstico Técnico-Produto 2.** Meio Biótico- Litoral Centro 1 3.2.2.6 RESTINGAS. 2019.

- AZEREDO, C. M. O. **Efeito inibitório de óleos essenciais sobre trypanosoma cruzi**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p.75. 2013.
- BAKIR, B.; HIM, A.; ÖZBEK, H. Investigation of the anti-inflammatory and analgesic activities of  $\beta$ -caryophyllene Hippocampus View project Electrophysiology View project. 2008.
- BARBOSA, D. R. et al. Influência de cultivares de feijão-caupi no crescimento populacional de *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). In: **Embrapa Meio-Norte-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 3., 2013, Recife. Feijão-Caupi como alternativa sustentável para os sistemas produtivos familiares e empresariais. Recife: IPA, 2013., 2013.
- BARRIOS, S. C.; JOSÉ, R. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Documentos 317 Manual de Curadores de Germoplasma-Vegetal: Conservação ex situ (Colbase-Sementes). 2010.
- BAVELONI, F. G. **Estudo do potencial antitumoral da cordialina a em sistema nanoemulsionado para tratamento de linhagens celulares de tumor cervical humano**. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia) – UNESP. São Paulo, p.57. 2018.
- BELASLI, A. et al. Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (*Laurus nobilis* L.): Potential use as wheat preservative. **Food Science and Nutrition**, v. 8, n. 9, p. 4717–4729, 1 set. 2020.
- BENEDICTO, M. **Biodiversidade brasileira | Agência de Notícias**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/19511-biodiversidade-brasileira>>. Acesso em: 5 jan. 2022.
- BIESKI, I. G. C. et al. Potencial econômico e terapêutico dos óleos essenciais mais utilizados no Brasil. **Revista Fitos**, v. 15, n. Supl 1, p. 125–137, 31 jan. 2022.
- Bioma Mata Atlântica. **PORTAL EMBRAPA**. 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/contando-ciencia/bioma-mata-atlantica>>. Acesso em: 7 abr. 2022.
- Biomias brasileiros. **IBGE**. 2022 Disponível em: <<https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/territorio/18307-biomias-brasileiros.html>>. Acesso em: 7 abr. 2022.
- BIZZO, H. R.; C. HOVELL, A. M.; REZENDE, C. M. Oleos essenciais no brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009.
- BIZZO, H.; REZENDE, C. O MERCADO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO BRASIL E NO MUNDO NA ÚLTIMA DÉCADA. **Química Nova**, v. 00, 2022.
- BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Secondary Plant Metabolites. **Plant Physiology**, p. 590–610, 2020.
- BRANDÃO, D. S. et al. Biologia floral e sistema reprodutivo da erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 562–569, 1 out. 2015a.
- BRANDÃO, D. S. et al. Biologia floral e sistema reprodutivo da erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 562–569, dez. 2015b.
- BRANDÃO, D. S. et al. Growing of tropical black sage and chemical composition of the essential oil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 4, p. 823–829, 12 jan. 2017.

- BRASIL. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos: Série B. Textos Básicos de Saúde. Brasília, DF-Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica, 2006.
- Brasil em síntese- Território. **IBGE**. Disponível em: <<https://brasilemsintese.ibge.gov.br/territorio.html>>. Acesso em: 7 abr. 2022.
- BRASIL. **Bioma Mata Atlântica - Instituto Brasileiro de Florestas**. Disponível em: <[https://www.ibflorestas.org.br/bioma-mata-atlantica?utm\\_source=google-ads&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=biomas&keyword=mata-atlantica&creative=519561022233&gclid=Cj0KCCQiA2sqOBhCGARIsAPuPK0i4n\\_SDANOKFNjWNoowyE2EJCoJustwc1D3SJoEcHrJd7kRIYLkKjsaAqhhEALw\\_wcB](https://www.ibflorestas.org.br/bioma-mata-atlantica?utm_source=google-ads&utm_medium=cpc&utm_campaign=biomas&keyword=mata-atlantica&creative=519561022233&gclid=Cj0KCCQiA2sqOBhCGARIsAPuPK0i4n_SDANOKFNjWNoowyE2EJCoJustwc1D3SJoEcHrJd7kRIYLkKjsaAqhhEALw_wcB)>. Acesso em: 5 jan. 2022.
- BRISTOT, S. F. et al. Uso medicinal de *Varronia curassavica* Jacq. “erva-baleeira” (Boraginaceae): estudo de caso no sul do Brasil / Medicinal use of *Varronia curassavica* Jacq. “erva-baleeira” (Boraginaceae): case study in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 170–182, 2021.
- BRITO, V. D. et al. An alternative to reduce the use of the synthetic insecticide against the maize weevil *Sitophilus zeamais* through the synergistic action of *Pimenta racemosa* and *Citrus sinensis* essential oils with chlorpyrifos. **Journal of Pest Science**, v. 94, n. 2, p. 409–421, 2021.
- BUENO, C. C. et al. Perfil da exportação e importação de óleos essenciais no Brasil, entre os anos de 2020 e 2021, e a predominância do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* no Paraná. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e560101321574, 2021.
- CAMILA MARIA OLIVEIRA DE AZEREDO. **Efeito inibitório de óleos essenciais sobre trypanosoma cruzi**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2013.
- CARDOSO, J. T. A Mata Atlântica e sua conservação. **Revista Encontros Teológicos**, v. 31, n. 3, p. 441–458, 2016.
- CASSIANO OLIVEIRA BRITO, A. et al. Doenças Negligenciadas: Doença de Chagas e os aspectos atuais do tratamento Neglected Diseases: Chagas Disease and current aspects of treatment. v. 1, n. 2, p. 9–17, 2021.
- CHAGAS, J. H. et al. Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função da idade e época de colheita em plantas de hortelã-japonesa. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 2, p. 327–334, 2011.
- COELHO, M. A. N. et al. Flora do estado do Rio de Janeiro : avanços no conhecimento da diversidade. v. 68, n. 1, p. 1–11, 2017a.
- COELHO, M. A. N. et al. **Flora do estado do Rio de Janeiro: avanços no conhecimento da diversidade** *Rodriguesia* Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, , 1 jan. 2017b. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rod/a/qCMYTtYtMPNmrMWyJ4FRN8P/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 20 out. 2022
- COLEMAN, J. R. Chromosome numbers of angiosperms collected in the state of São Paulo. **Rev. Brasil. Genet.**, v. 3, p. 533–549, 1982.
- CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, ; Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Rev. Bras. Pl. Med**, p. 500–506, 2011.
- COSTA, L. C. DO B. et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 956–959, dez. 2005.
- COUTINHO, L. M. O conceito de bioma\_ Biomas brasileiros. **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 13–23, 2006.

- CRISTIANO, R.; SANTOS, M. Rodolfo Cristiano Martins Santos Curso de Ciências Biológicas Belo Horizonte – MG 2010. 2010.
- CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. Biometria aplicada ao estudo da genética da diversidade. p. 620, 2020.
- CUNHA-FILHO, M. et al. Recentes avanços no tratamento da doença de Chagas. **Brasília Med**, v. 49, n. 4, p. 279–283, 2012.
- DA SILVA, F. C. et al. Chagas disease: Challenges in developing new trypanocidal lead compounds. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 1, p. 46–72, 2012.
- DA SILVA, T. B. et al. Chemical composition and anti-trypanosoma cruzi activity of essential oils obtained from leaves of *Xylopia frutescens* and *X. laevigata* (Annonaceae). **Natural Product Communications**, v. 8, n. 3, p. 403–406, 2013.
- DE ARAÚJO, A. K. O. et al. Sanitary and physiological quality of *chorisia glaziovii* o. kuntze seeds treated with plant extracts. **Ciencia Florestal**, v. 29, n. 2, p. 649–659, 2019.
- DE CARVALHO CASTRO, K. N. et al. Acaricidal activity of cashew nut shell liquid associated with essential oils from *Cordia verbenacea* and *Psidium guajava* on *Rhipicephalus microplus*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 31, n. 4, p. 297–304, 2019.
- DE CARVALHO, P. M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* D.C. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2–3, p. 297–301, 1 dez. 2004.
- DE CASTRO NIZIO, D. A. et al. Essential oils of *Varronia curassavica* accessions have different activity against white spot disease in freshwater fish. **Parasitology Research**, v. 117, n. 1, p. 97–105, 1 jan. 2018.
- DE OLIVEIRA, B. M. S. et al. Essential oils from *Varronia curassavica* (Cordiaceae) accessions and their compounds (E)-caryophyllene and  $\alpha$ -humulene as an alternative to control *Dorymyrmex thoracicus* (Formicidae: Dolichoderinae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 7, p. 6602–6612, 9 mar. 2019.
- DHIFI, W. et al. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines 2016, Vol. 3, Page 25**, v. 3, n. 4, p. 25, 22 set. 2016.
- DIONÍZIO CARDOSO, G. et al. Etiologia e progresso da mancha de pestalotia do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), em São Gonçalo, Paraíba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 335–336, ago. 2003.
- EL TOGHLOBI, G. S. S. et al. Usos clínicos do fitoterápico da erva-baleeira (*Varronia curassavica* jacq.): revisão da literatura. **International Journal of Health Management Review**, v. 8, n. 1, 11 jan. 2022a.
- EL TOGHLOBI, G. S. S. et al. Usos clínicos do fitoterápico da erva-baleeira (*Varronia curassavica* jacq.): revisão da literatura. **International Journal of Health Management Review**, v. 8, n. 1, 11 jan. 2022b.
- EL TOGHLOBI, G. S. S. et al. Usos clínicos do fitoterápico da erva-baleeira (*Varronia curassavica* jacq.): revisão da literatura. **International Journal of Health Management Review**, v. 8, n. 1, 11 jan. 2022c.
- ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Ciencia e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 35–36, 2003.
- FACANALI, R. et al. Perfil metabólico de *Varronia curassavica* Jacq. . Terpenóides por cromatografia gasosa bidimensional modulada em fluxo acoplada a espectrometria de massa. 2020.
- FAUNA E FLORA. **MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE**. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade/fauna-e-flora>>. Acesso em: 5 jan. 2022.

- FERNANDES, T. O. M. et al. Variability of individuals from a population *Varronia curassavica* Jacq. considering volatile compounds. **Ciência Rural**, v. 52, n. 8, 2022.
- FERREIRA, L. R.; MARTINS, A. C. C. T.-. Química e etnofarmacologia de plantas místicas em uma comunidade amazônica. **Revista Fitos**, v. 10, n. 3, p. 307–328, 2016.
- FERREIRA, M. V.; LEBUINO, L. P.; SANTOS, J. S. Plantas medicinais de uso tradicional na região sul paraense: um estudo etnobotânico. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e592101220778, 2021.
- FIGUEIRA, G. M. et al. Development and characterisation of microsatellite markers for *Cordia verbenacea* (Boraginaceae), an important medicinal species from the Brazilian coast. **Conservation Genetics**, v. 11, n. 3, p. 1127–1129, 2010.
- FIGUEIREDO, AC; BARROSOS, JG; PEDRO, L. Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais ESTRUTURAS SECRETORAS EM PLANTAS. Uma abordagem Morfo- Anatómica \*. p. 19–28, 2007.
- FRANCESCATO, L. N.; SANTOS DA SILVA, G. N. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Senecio ceratophylloides* Griseb. **Registros da 58ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o progresso da Ciência**, p. 297–301, 2006.
- FRANKE, et al. **Mata Atlântica e Biodiversidade**. Edufba. Salvador, p. 480. 2005.
- GASPARINO, E. C. **Estudo polínico das espécies do gênero *Cordia* L. (Boraginaceae) ocorrentes no Estado**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo, p. 105. 2005.
- GILBERT, B.; FAVORETO, R. Monografia: *Cordia verbenacea* DC Boraginaceae. **Revista Fitos**, v. 7, n. 1, p. 17–25, 2012.
- GILBERT, B.; FAVORETO, R. *Cordia verbenacea* DC Boraginaceae. **Revista Fitos**, v. 7, n. 01, p. 17–25, 2013.
- GOMES, P. A. **ÓLEO ESSENCIAL DA ERVA-BALEEIRA (*Cordia verbenacea* L.) de ÁREAS NATIVAS**. [s.l: s.n.].
- HAMMER, O.; HARPER, D. A.T.; RYAN, P. D. **PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis**, 2001.
- HARTWIG, B. R.; RODRIGUES, D. S.; OLIVEIRA JUNIOR, C. J. F. ERVA-BALEEIRA, UMA POSSIBILIDADE REAL DA SOCIOBIODIVERSIDADE PARA MODELOS SUSTENTÁVEIS DE PRODUÇÃO. **HOLOS**, v. 3, p. 1–21, 15 maio 2020.
- HERNANDEZ-MARQUEZ, A.; ISHIWARA, R. P.; SANTOS-GALLY, R. Heterostyly, incompatibility system and pollinators in *Varronia spinescens* Borhidí (L.) (Cordiaceae). **Flora**, v. 289, n. March, p. 152040, abr. 2022.
- HOELTGEBaum, M. P. et al. Diversidade e estrutura genética de populações de *Varronia curassavica* Jacq. Em restingas da Ilha de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1083–1090, 2015.
- HOELTGEBaum, M. P. et al. Reproductive biology of *Varronia curassavica* Jacq. (Boraginaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 59–71, 2018a.
- HOELTGEBaum, M. P. et al. Biologia Reprodutiva de *Varronia curassavica* Jacq. ( Boraginaceae ) fragilidade e suscetibilidade a diferentes distúrbios ( Waechter 1985 , Rocha et al . 2004 ). Na verdade , as restingas têm experimentado um processo contínuo de degradação desde o assen. v. 90, p. 59–71, 2018b.
- HOLZER, W. et al. MEIO AMBIENTE MEIO AMBIENTE Alice Cabanelas Pires SUSTENTABILIDADE DA URBANIZAÇÃO EM ÁREAS DE RESTINGA: UMA



- PROPOSTA DE AVALIAÇÃO PÓS-OCUPAÇÃO. 2004.
- INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO. **Consulta Pública do Herbário Virtual**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.do>>. Acesso em: 1 maio. 2022.
- ISO, I.S. 9235: 2013 Vocabulary. ISO, International Standard 9235: 2013 Aromatic natural raw materials—vocabulary. [WWW Document]. Organ. Stand. Geneva, Switz. URL [http://www.iso.org/iso/catalogue\\_detail.htm?csnumber=51017](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=51017) [Accessed May 03, 2022].
- JAKAB, Á. et al. Transcriptional Profiling of the *Candida auris* Response to Exogenous Farnesol Exposure. **mSphere**, v. 6, n. 5, 27 out. 2021.
- JUMBO, L. O. V. et al. Toxicity to, oviposition and population growth impairments of *Callosobruchus maculatus* exposed to clove and cinnamon essential oils. **PLOS ONE**, v. 13, n. 11, p. e0207618, 1 nov. 2018.
- KALPNA; HAJAM, Y. A.; KUMAR, R. **Management of stored grain pest with special reference to *Callosobruchus maculatus*, a major pest of cowpea: A review**. Heliyon. 2022.
- KARADAĞ, A. E. et al. In vitro antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. flower extract fractions. **South African Journal of Botany**, v. 125, p. 214–220, 1 set. 2019.
- KAWAGUCHI, W. H. et al. Doença de Chagas : do surgimento ao tratamento – revisão da literatura. v. 37, n. 2, p. 182–189, 2019.
- KEDIA, A. et al. **Botanicals as eco friendly biorational alternatives of synthetic pesticides against *Callosobruchus* spp. (Coleoptera: Bruchidae)—a review** *Journal of Food Science and Technology* Springer, , 1 mar. 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-013-1167-8>>. Acesso em: 27 jan. 2022
- 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.
- KLEINGESINDS, C. **Sinalização entre plantas e bactérias**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/324744075>>. Acesso em: 4 maio. 2022.
- L. DANTAS, D. et al. Advances in the Synthesis, Biological Activities and Applications of Cordiaquinones in the Cordia Genus: A Review. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 6, p. 1353–1371, 2021a.
- L. DANTAS, D. et al. Avanços na Síntese , Atividades Biológicas e Aplicações. v. 13, n. 6, p. 1353–1371, 2021b.
- LANGE, B. M. et al. Utility of Aromatic Plants for the Biotechnological Production of Sustainable Chemical and Pharmaceutical Feedstocks. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 2, n. 5, p. 1–10, 2012.
- LEAL-COSTA, M. V.; AMÉLIA, R. P. Anatomia foliar de *Varronia curassavica* Jacq. (Cordiaceae). **Revista Fitos**, v. 11, n. 1, p. 33–39, 2017.
- LEGEÉ. **ÓLEO ESSENCIAL DE ERVA BALEEIRA “FOLHAS” 5ML**. Disponível em: <<https://www.legearomas.com.br/produtos/oleo-essencial-de-erva-baleeira-cordia-verbenacea-organico-1l/>>. Acesso em: 2 jun. 2022.
- LIMA, F. J. A. DE et al. Caracterização do crescimento e produção de óleo essencial da erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e5810716204, 2021.
- LINO, C. F.; BECHARA, E. Estratégias E Instrumentos Para a Conservação , Recuperação E Na Mata Atlântica. 2000.

- LOGANATHAN, M. et al. Low and high temperatures for the control of cowpea beetle, *callosobruchus maculatus* (F.) (coleoptera: Bruchidae) in chickpeas. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 3, p. 244–248, 1 jul. 2011.
- LOURENZANI, A. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. **Informações ...**, 2004.
- LUCIANO PICOLOTTO et al. Desenvolvimento Inicial de Pitangueira a partir de Sementes de Frutos em Diferentes Estágios de Maturação. [s.d.].
- MACIEL, E. J. et al. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Florestas Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimenta-rosa. 2016.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. et al. Pestalotiopsis-morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. **Fungal Diversity**, v. 50, n. 1, p. 167–187, set. 2011.
- MALECK, M. et al. Óleos Essenciais – Um Breve Relato. **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 14, n. 2, p. 43–49, 2021.
- MARIOT, MÁRCIO PAIM, BARBIERI, ROSA LÍA. Espinheira - santa: uma alternativa de produção para a pequena propriedade. **EMBRAPA**, 2006.
- MARQUES, A. P. S. et al. Chemical composition of essential oil from *Varronia curassavica* Jacq. accessions in different seasons of the year. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111656, 15 nov. 2019.
- MARSARO JÚNIOR, A. L.; ALCANTARA VILARINHO, A. Resistência de cultivares de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em condições de armazenamento. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 9, n. 1, p. 51, 14 jun. 2017.
- MASSANGO, H. G. L. L. et al. Toxicity and metabolic mechanisms underlying the insecticidal activity of parsley essential oil on bean weevil, *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 723–733, 2017.
- FLORA: Muitas espécies da flora da Mata Atlântica são endêmicas e ameaçadas de extinção. **Apremavi**, Santa Catarina, 2022. Disponível em: <[https://apremavi.org.br/mata-atlantica/flora/?gclid=Cj0KCCQiAoNWOBhCwARIsAAiHnEht6R-fAcqwWZThniXS41wFv5SJYT9b9wTa4X13YViXcaYyWHuJr0UaAt6YEALw\\_wcB](https://apremavi.org.br/mata-atlantica/flora/?gclid=Cj0KCCQiAoNWOBhCwARIsAAiHnEht6R-fAcqwWZThniXS41wFv5SJYT9b9wTa4X13YViXcaYyWHuJr0UaAt6YEALw_wcB)>. Acesso em: 6 jan. 2022.
- MATIAS, E. F. F. et al. Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordia verbenacea* DC. as Tool to Validate the Ethnobiological Usage. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.
- MATOS, L. F. et al. Chemical composition and insecticidal effect of essential oils from *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllus* on *Callosobruchus maculatus* in cowpea. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112088, 1 mar. 2020.
- MECCIA, G. et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* from the Venezuelan Andes. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 8, p. 1119–1122, 1 ago. 2009.
- MELO, C. R. et al. Óleos essenciais de *Varronia curassavica* ( Cordiaceae ) acessos e seus compostos ( E ) -cariofileno e  $\alpha$ -humulene como uma alternativa para controlar *Dorymyrmex thoracius* ( Formicidae : Dolichoderinae ). 2019.
- MELO, E. M. DE et al. MINI-REVISÃO SOBRE ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NA AROMATERAPIA E SUA AÇÃO FARMACOLÓGICA. In: **PRODUTOS NATURAIS E SUAS APLICAÇÕES: DA COMUNIDADE PARA O LABORATÓRIO**. Editora Científica Digital, 2021. v. 1p. 143–155. MENDES, A. D. R. et al. Reguladores vegetais e substratos no enraizamento de estacas de erva-

- baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 262–270, 2014.
- MENDES, A. D. R. et al. Ecogeografia de populações de erva-baleeira (*Varronia curassavica*) no Norte e Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais. **Ciencia Rural**, v. 45, n. 3, p. 418–424, 1 jan. 2015.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009. **Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS (Renusus) Ministério Da Saúde**, 2009. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/plantas-mediciniais-e-fitoterapicas/ppnmpf/plantas-mediciniais-de-interesse-ao-sus-2013-renisus>>. Acesso em: 1 maio. 2022
- Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA-RDC Nº 26, DE 13 DE MAIO DE 2014. [s.d.].
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Biodiversidade — Português (Brasil)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade>>. Acesso em: 19 out. 2022.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Conservação in situ , ex situ e on farm**. Disponível em: <<https://antigo.mma.gov.br/licitações-e-contratos/item/7611-conservação-in-situ,-ex-situ-e-on-farm.html>>. Acesso em: 1 maio. 2022.
- MIR, B. A. G. et al. Lavandula angustifolia aqueous extract ameliorates anxiety and depressive-like behaviors in chronic mild stress-treated male rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 14, n. 11, p. 593–603, 2020.
- MORAES, D. **Invivo ::: Veja o vivo ::: Bioma Caatinga**. Disponível em: <<http://www.invivo.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=964&sid=2>>. Acesso em: 6 jan. 2022.
- MORAIS, L. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W; MORANDI, M. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. p. 142–143, 2009.
- MORANDI, M. A. B. Integração de métodos físicos e biológicos no controle de doenças em viveiro de plantas medicinais: estudo de caso com *Cordia verbenaceae*. **Embrapa Meio Ambiente**, p. 337–341, 2009.
- MOREIRA, M. et al. **USO DE INSETICIDAS BOTÂNICOS NO CONTROLE DE PRAGAS Development of decision making systems for pest control in watermelon and melon View project tomato Growing Systems View project researchgate.net**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/268358966>>. Acesso em: 6 maio. 2022.
- MORENO, É. M. et al. Induction of programmed cell death in *Trypanosoma cruzi* by *Lippia alba* essential oils and their major and synergistic terpenes (citral, limonene and caryophyllene oxide). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, p. 1–16, 27 jul. 2018.
- MOTA, M. M. **CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA , FITOQUÍMICA E DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES NATURAIS DE *Varronia curassavica* Jacq . E *Momordica* CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA , FITOQUÍMICA E DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE DIFERENTES POPULAÇÕES NATURAIS DE *Varronia***. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, p. 171. 2019.
- NASCIMENTO, L. F. et al. **CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E QUÍMICA DE ACESSOS DE ERVA-BALEEIRA DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS DA UFS. Reunião Anual da SBPC 2018**.
- NASCIMENTO, R. V. **Estudo da Espécie *Varronia curassavica* (Boraginaceae) em**

- Fragmentos da Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro, com Base no Perfil Químico dos Óleos Essenciais.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.
- NIZIO, D. A. DE C. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA** Estudo fitoquímico e atividades antifúngica e antiprotozoária do óleo essencial de genótipos de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). Sergipe, 2015.
- NIZIO, D. A. DE C. **Estudo fitoquímico e atividades antifúngica e antiprotozoária do óleo essencial de genótipos de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.).** Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Sergipe. Sergipe, p. 109. 2015.
- NIZIO, D. A. DE C. **PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM** Estudo fitoquímico e atividades antifúngica e antiprotozoária do óleo essencial de genótipos de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq. ) Daniela Aparecida de Castro Nizio São Cristó. 2015c.
- NIZIO, D. A. DE C. et al. Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 437–448, 15 dez. 2015.
- OKADA, K. The biosynthesis of isoprenoids and the mechanisms regulating it in plants. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 75, n. 7, p. 1219–1225, 2011.
- OLIVEIRA, C. M. et al. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50–54, 1 fev. 2014.
- OLIVEIRA, B. M. S. DE. **CARACTERIZAÇÃO, SAZONALIDADE E ATIVIDADE INSETICIDA DE ACESSOS DE *Varronia curassavica* Jacq.** p. 1–10, 2019.
- OLIVEIRA, B. M. S. DE et al. Chemical analyses of the essential oils from *Varronia curassavica* accessions in two seasons. **Journal of Essential Oil Research**, v. 00, n. 00, p. 494–511, 2020.
- OLIVEIRA, M. C. B. L. DE. **Atividade antiinflamatória dos extratos obtidos de *Cordia curassavica* DC,** 2002. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/porta1/resource/pt/sus-32713>>. Acesso em: 22 jun. 2022
- OLIVEIRA, V. B. DE; MEZZOMO, T. R.; MORAES, E. F. DE. Conhecimento e Uso de Plantas Medicinais por Usuários de Unidades Básicas de Saúde na Região de Colombo, PR. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 1, p. 57–64, 2018.
- OLIVEIRA, M. DE F. et al. Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. **Rev.patol.trop**, v. 37, n. 3, p. 209–228, 2008.
- OLIVEIRA, O. DOS S.; ANTOLIOLLI, Z. I.; MORAES, A. B. Z. DE. OCORRÊNCIA DO AGENTE FÚNGICO *Pestalotia dictyospora* Speg. EM POVOAMENTOS DE *Eucalyptus* spp. OCCORENCE OF THE FUNGAL AGENT *Pestalotia dictyospora* Speg. IN YOUNG POPULATIONS OF *Eucalyptus* spp. **Ciência Florestal**, n. 1, p. 40–45, 1991.
- OPAS. **Medicinas tradicionais, complementares e integrativas - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde.** Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/medicinas-tradicionais-complementares-e-integrativas>>. Acesso em: 20 out. 2022.
- OREIRA, R. M.; ROCHA, D. A. A RESTINGA COMO EXEMPLO DE ECOSISTEMA E A SUA URBANIZAÇÃO. p. 57–73, 1994.
- PACHECO, L. V. et al. Oral transmission of Chagas disease: A literature review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2 SE-, p. e31910212636, 2021.

- PAIVA, S. R. et al. **Coleção 500 perguntas e 500 respostas Recursos genéticos**. Brasília, 2019.
- PASSOS, G. F. et al. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 323–333, 21 mar. 2007.
- PEDRO ALVES PIMENTA JÚNIOR; et al. Vista do Manejo Agroecológico de Pragas. v. 17, n. 2, 2022.
- PEREIRA, A. R. A. et al. Traditional use of medicinal plants by elderly. **Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste**, v. 17, n. 3, p. 427, 2016.
- PEREIRA, E. A. D. et al. **Prospecção de erva-baleeira nas regiões costeiras do Rio de Janeiro e Espírito Santo na busca por espécimes com maior teor de  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -humuleno, princípios ativos que conferem propriedades farmacológicas ao óleo essencial**. Disponível em: <[http://anais.infobibos.com.br/sboe/10/Resumos/Resumo10SBOE\\_0012.pdf](http://anais.infobibos.com.br/sboe/10/Resumos/Resumo10SBOE_0012.pdf)>. Acesso em: 17 ago. 2022.
- PEREIRA, P. S. et al. Cytotoxicity of essential oil cordia verbenaceae against *Leishmania brasiliensis* and *trypanosoma cruzi*. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 1–13, 2021a.
- PEREIRA, P. S. et al. Cytotoxicity of essential oil cordia verbenaceae against *Leishmania brasiliensis* and *trypanosoma cruzi*. **Molecules**, v. 26, n. 15, p. 4485, 25 jul. 2021b.
- PERES, WALMOR; CERESINI, PAULO; TAMANINI, GEOVANNI; DAVID, GRACE; SORATO, ADRIANA; MATOS, D. Controle alternativo do fungo *Pestalotia sp.* com extratos vegetais “in vitro”. v. 13, 2018.
- PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**, v. 391, n. 10115, p. 82–94, 2018.
- Plantas medicinais, condimentares e aromáticas - Agroecologia - **PORTAL EMBRAPA**. Disponível em: <[https://www.embrapa.br/en/contando-ciencia/agroecologia/-/asset\\_publisher/Gh7VczqVqPYX/content/plantas-medicinais-aromaticas-e-condimentares/1355746?inheritRedirect=false](https://www.embrapa.br/en/contando-ciencia/agroecologia/-/asset_publisher/Gh7VczqVqPYX/content/plantas-medicinais-aromaticas-e-condimentares/1355746?inheritRedirect=false)>. Acesso em: 20 out. 2022.
- PITONI, V. L. L. Mata Atlântica, Patrimônio Nacional. **SEMA - Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura**, 27 mai. 2009 Disponível em: <<https://www.sema.rs.gov.br/mata-atlantica-patrimonio-nacional-5862c6de9bd2e>>. Acesso em: 5 jan. 2022.
- PONTES, A. et al. Doenças negligenciadas e indústria farmacêutica : o caso da Doença de Chagas Neglected diseases and pharmaceutical industry : the case of Chagas Disease Enfermedades desatendidas y la industria farmacéutica : el caso de la Enfermedad de Chagas. v. 2021, p. 1–12, 2021.
- POSSAMAI, M.; COLLE, D.; ROSSATO, A. E. Uso medicinal de *Varronia curassavica* Jacq . “ erva-baleeira ” ( Boraginaceae ) : estudo de caso no sul do Brasil Medicinal use of *Varronia curassavica* Jacq . “ erva - baleeira ” ( Boraginaceae ) : case study in Southern Brazil. p. 170–182, 2021.
- QUEIROZ, A. A. C. E D. C. Química Nova- Óleos Essenciais e Química Fina Óleos Essenciais e Química Fina. 1993.
- QUEIROZ, T. B. et al. **Teor e composição química do óleo essencial de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em função dos horários de coleta** **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 2016.
- QUEIROZ, T. B. et al. Chemical diversity of accessions of the in vivo germplasm bank of *varronia curassavica* (Jacq.). **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 42, p. 2020, 2019a.
- QUEIROZ, T. B. et al. Chemical diversity of accessions of the in vivo germplasm bank of *varronia curassavica* (Jacq.). **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 42, p. 2020, 21

- out. 2019b.
- RADÜNZ, M. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food Chemistry**, v. 276, p. 180–186, 15 mar. 2019.
- REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, T. Óleos essenciais no controle de insetos : Produtos de baixo risco em um Mundo de alto risco. 2012.
- REIS, E. A.; REIS, I. A. Análise Descritiva de Dados - Tabelas e Gráficos. **Universidade Federal de Minas Gerais**, p. 36, 2001.
- ROCHA, J. A.; BOSCOLO, O. H.; FERNANDES, L. R. R. DE M. V. Etnobotânica: um instrumento para valorização e identificação de potenciais de proteção do conhecimento tradicional. **Interações (Campo Grande)**, v. 16, n. 1, p. 67–74, 2015.
- RODRIGUES, E. S.; DE BRITO, N. M.; DE OLIVEIRA, V. J. S. Estudo Etnobotânico de Plantas Mediciniais Utilizadas por alguns Moradores de Três Comunidades Rurais do Município de Cabaceiras do Paraguaçu/Bahia. **Biodiversidade Brasileira - BioBrasil**, n. 1, 2021.
- RODRIGUES, F. F. G. et al. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. **Pharmacognosy Research**, v. 4, n. 3, p. 161–165, jul. 2012.
- ROLDÃO, E. DE F. et al. Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 1, p. 94–98, 2 set. 2008.
- ROSARIO, F. R. DO et al. Mata-Atlântica: Economia, Igualdade, Ideias E Preservação. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 9, p. 755, 2020.
- S. ALVES, M. et al. Essential Oils Chemical Diversity from UFRRJ Botanical Garden and Other Locations Plants Based on Analysis of Image and Multivariate Statistic. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, p. 1635–1656, 2019.
- SANGWAN, NS; FAROOQI, AHA; SHABIH, F.E SANGWAN, R. Plant growth regulation. **Science**, v. 131, n. 3393, p. 110–111, 2001.
- SANON, A. et al. Potential of Botanicals to Control *Callosobruchus maculatus* (Col.: Chrysomelidae, Bruchinae), a Major Pest of Stored Cowpeas in Burkina Faso: A Review . **International Journal of Insect Science**, v. 10, p. 117954331879026, 2018.
- SANTORO, G. F. et al. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. **Parasitology Research**, v. 100, n. 4, p. 783–790, 6 mar. 2007a.
- SANTORO, G. F. et al. *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. **Experimental Parasitology**, v. 116, n. 3, p. 283–290, 1 jul. 2007b.
- SANTOS, D. Y. A. C. DOS. **Biossíntese, Funções e Aplicações dos metabólitos secundários de Plantas**. Curitiba/PR. Editora e Livraria Appris Ltda. 2020.
- SANTOS, L. B. **Estudo da Diversidade Química e Genética de *Eugenia* spp. no Estado de Sergipe**. Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2018.
- SANTOS, R. P. et al. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 5, p. 1027–1030, 2006.
- SAYYAH, M. et al. Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. **Phytotherapy research : PTR**, v. 17, n. 7, p. 733–736, ago. 2003.
- SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL -SENAR. **Plantas medicinais**



- aromáticas e condimentares: produção e beneficiamento.** Coleção 213. Brasília. 2017. p.1-122.
- SERTIÉ, J. A. A. et al. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 338–344, 16 maio 2005.
- SILVA-LÓPEZ, R. E.; SANTOS, B. C. *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae). **Revista Fitos**, v. 9, n. 3, p. 1–16, 2015.
- SILVA, A. C. M. DA et al. Revista Saúde em Foco - Edição nº 11 – Ano: 2019. p. 435–444, 2019a.
- SILVA, L. N. et al. Indústria De Óleos Essenciais No Brasil : Uma Perspectiva a Partir Do Programa De Modernização Das Estatísticas Econômicas. **Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências (CONAPESC)**, 2019b.
- SILVA, S. DE S. et al. Avaliação da atividade tripanocida e citotóxica in vitro dos óleos essenciais de plantas nativas do cerrado brasileiro. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e286997072, 2020.
- SILVA, V. A. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES FLORESTAIS. p. 1–117, 2019.
- SILVEIRA, J. C. et al. LEVANTAMENTO E ANÁLISE DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, v. 8, n. 15, 30 nov. 2012.
- SILVEIRA, J.C. ; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S. ; JUNIOR, E. F. C. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. p. 1574–1582, 2014.
- SIMON, M. F. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Documentos 322 Manual de Curadores de Germoplasma-Vegetal: Conservação in situ. 2010.
- SINGH, A. K. et al. Essential oil composition and chemoarrays of menthol mint (*Mentha arvensis* L. f. *piperascens* Malinvaud ex. Holmes) cultivars. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 3, p. 302–305, maio 2005.
- SOBRAL-SOUZA, C. E. et al. Avaliação da atividade citotóxica e potencial antiparasitário in vitro do a-pineno e carvacrol TT - Cytotoxic and antiparasitic in vitro activities of a-pinene and carvacrol. **Acta toxicol. argent**, v. 22, n. 2, p. 76–81, 2014.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. THE COMPARISON OF DENDROGRAMS BY OBJECTIVE METHODS. **TAXON**, v. 11, n. 2, p. 33–40, fev. 1962.
- SOUZA, S. A. M. M. R. M. L. S. DE F. E. R. M. ÓLEOS ESSENCIAIS: ASPECTOS ECONÔMICOS E SUSTENTÁVEIS. 2010.
- SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 495–503, 2015.
- STAPF, M.N.S.; SILVA, T. S. 2020. V. IN F. DO B. 2020. J. B. DO R. DE J. D. EM: <[HTTPS://FLORADOBRASIL.JBRJ.GOV.BR/REFLORA/FLORADOBRASIL/FB105435](https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB105435)>. A. EM: 17 JAN. 2022. **No Title**.
- STAUDT, A. et al. Biological properties of functional flavoring produced by enzymatic esterification of citronellol and geraniol present in *Cymbopogon winterianus* essential oil. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 5981–5987, 2021.
- TEIXEIRA, M. A. et al. In vitro identification and control of *Pestalotiopsis longisetula* fungus, pathogens strawberry crop. **Revista Agrogeoambiental**, v. 7, n. 3, 26 maio 2015.

- THOMAZI, R. et al. Um panorama da vegetação das restingas do Espírito Santo no contexto do litoral brasileiro. **Natureza on line**, v. 11, p. 1–6, 2013.
- TICLI, F. K. et al. Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A2 inhibitor from *Cordia verbenacea* (Boraginaceae): antiserum action potentiation and molecular interaction. **Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology**, v. 46, n. 3, p. 318–327, 1 set. 2005.
- TÖLKE, E. E. A. D. et al. Leaf anatomy with emphasis on separation of two species of *Varronia* P.Br. (Cordiaceae) of the Brazilian semi-arid region. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 36, n. 3, p. 189–201, 1 set. 2013.
- TONIAL, C. H. et al. Culturas e produtos industriais Avaliação técnica e econômica do cultivo e obtenção de *Varronia curassavica*. v. 154, p. 1–12, 2020a.
- TONIAL, C. H. et al. Technical and economic evaluation of cultivation and obtaining of *Varronia curassavica* Jacq. essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 112650, 15 out. 2020b.
- 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.
- VAZ, A. P. A.; JORGE, M. H. A. Série Plantas medicinais, codimentares e Aromáticas: Erva baleeira. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2006.
- VAZ, A. P. A. et al. Biomass and chemical composition of improved genotypes of medicinal plant species cultivated in four cities of São Paulo State, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 869–872, 2006.
- VAZ, A. P. A.; JORGE, M. H. A. Série Plantas Medicinais, Condimentares e Aromáticas. **200 exemplares**, p. 2011–2011, 2006.
- VENTRELLA, M. C.; MARINHO, R. Morfologia e histoquímica de tricomas glandulares de *Cordia verbenacea* DC . ( Boraginaceae ) folhas. p. 457–467, 2008.
- VERMELHO, A. B.; RODRIGUES, G. C.; SUPURAN, C. T. Why hasn't there been more progress in new Chagas disease drug discovery? **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 15, n. 2, p. 145–158, 2020.
- VENZON et al. **Controle alternativo de pragas e doenças: opção ou necessidade**. 22 ed, 2021, p.152.
- YAMAMOTO, P. Y. Interação genótipo x ambiente na produção e composição de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. p. 71, 2006.
- ZAU, A. Fragmentação da Mata Atlântica: aspectos teóricos. **Floresta e ambiente**, v.5, n. 1, p. 160-170, 1998.
- ZIMMERMANN, R. C.; FURUIE, J. L.; KATISKI, A. Uso de óleos essenciais no controle de fungos de grãos armazenados. **Anais do Congresso Brasileiro de Fitossanidade**, v. 5, n. 1, 2019.

## ANEXOS

### Anexo 1. Certidão de Autorização do SisGen.

  
**Ministério do Meio Ambiente**  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**  
**SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO**

**Certidão**  
**Cadastro nº A34C045**

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.172/2011, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi aceito pelo CGen.

Número do cadastro:	A34C045
Usuário:	MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA
CPF/CNPJ:	069.677.697-90
Objeto do Acesso:	Patrimônio Genético
Finalidade do Acesso:	Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico
Espécie	
Variante curativa	
Título da Atividade:	Prospecção de erva baleeira nas regiões costeiras do rio de janeiro e espírito santo na busca por espécimes com maior teor de $\beta$ -cariofileno e $\alpha$ -humuleno, princípios ativos que conferem propriedades farmacológicas ao óleo essencial
Equipe	
MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA	UFRRJ
Douglas de Almeida Siqueira Chaves	UFRRJ

Data do Cadastro: 11/08/2019 18:54:53  
Situação do Cadastro: Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 13/10 de 05/11/2021.

 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
ASSOCIADO - SISGEN

## Anexo 2. Autorização de pesquisa científica em Unidade de Conservação – INEA.

00/0000000

SECRETARIA DE ESTADO DO RIO DE JANEIRO



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 046/2020**

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-070002/006020/2020, AUTORIZA a pesquisadora **ELISABETH ALVES DUARTE PEREIRA**, vinculada à Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e sua equipe Thayna Ferreira Guadés, Ygor Menezes Moreira, Rayssa Vicente Nascimento, Marcus André Alves de Souza, Lucas Melo dos Fagundes, Sandra Gomes do Nascimento, Wendy da Silva Freitas, Paulo Ricardo de Souza Faria e Rafael Torres a obtenção de dados no Parque Estadual do Desengano (PED), Parque Estadual da Lagoa do Agui (PELAG) e Reserva Ecológica da Jatinga (REEJ), com vistas à execução do projeto de pesquisa **“Prospeção da erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em fragmentos da mata atlântica na região Norte do litoral do Rio de Janeiro em busca por genótipos com maior teor de β-caroteno e α-tocopherol, assim como propriedades biológicas de interesse a agricultura”**, 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.

**Condições desta autorização:**

- O pesquisador fica autorizado a coletar partes (caule, folhas, ramos ou raízes) de vegetais adultos da erva-baleeira, além de sementes quando encontradas.
- 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.
- Esta Autorização não autoriza a coleta de espécies constantes nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção, bem como o pesquisador da necessidade de solicitar outras autorizações, 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.
- Caso seja identificada em campo alguma espécie ameaçada de extinção ou espécie invasora, o INEA deverá ser informado o mais breve possível.
- 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 36.930/2015.
- 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: PED: (22) 2561-1178 ; ped.inea@gmail.com, PELAG: (22) 2747-5316 - pelag.inea@gmail.com; e REEJ: (24)3371-9654 ; reservajatinga@gmail.com.

https://pds.inea.gov.br/ineadocs/ineadocs/ineadocs/ineadocs/ineadocs/ineadocs/documento/10/022020046-01

00/0000000

SECRETARIA DE ESTADO DO RIO DE JANEIRO

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 coletados no menor nível taxonômico possível, incluindo datas e locais de coleta observação georreferenciadas (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 período 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 referenciais, 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 9.805/1998.

**João Estácio Nacif Xavier**  
Diretor de Biodiversidade, Áreas Protegidas e Ecossistemas  
Instituto Estadual do Ambiente  
ID: 2028244-3

Documento assinado eletronicamente por João Estácio Nacif Xavier, Diretor, em 01/10/2020, às 10:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento nos arts. 21º e 22º de [Decreto nº 46.710](#), de 9 de agosto de 2019.

A autenticidade deste documento pode ser confirmada no site: <http://sdi.inea.gov.br/sdi/ineadocs/ineadocs/ineadocs/ineadocs/ineadocs/documento/10/022020046-01>, informando o código verificador **8762851** e o código CRC **0A3B68F**.

Referência: Caso responda este Ofício, indicar expressamente o Processo nº 10-010062/003997/2020. SDI nº 8762851

**Av. Venezuela, 110 - Bairro Saicó, Rio de Janeiro RJ, CEP 20081-312**  
Telefone:

https://pds.inea.gov.br/ineadocs/ineadocs/ineadocs/ineadocs/ineadocs/documento/10/022020046-01

**Anexo 3.** Autorização de pesquisa com finalidade de atividades científicas- ICMBio (página 1).



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: TEGEE-1	Data de Emissão: 13/10/2019 09:12:41	Data de Revogação: 13/10/2021
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 renovada 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.		
<b>Dados do titular</b>		
Nome: Elizabeth Alves Duarte Pereira		CPF: 164.134.007-30
Título do Projeto: Proposição de área de proteção ambiental (Área de Proteção Ambiental) em fragmentos de mata atlântica na região Norte do Brasil do Rio de Janeiro em busca por genótipos com maior teor de Teucoflano e T-humulato a propriedades biológicas de interesse a agricultura.		
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO		CNPJ: 29.427.466/0001-05

**Cronograma de atividades**

#	Descrição de atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Elaboração e construção de materiais e registros no banco de dados do LITBIO.	12/2020	02/2021
2	Revisão de literatura, montagem de grupos de pesquisa, atividades de capacitação de estudantes.	02/2021	04/2021
3	Organização das áreas, prospecção e preparação de materiais.	05/2021	10/2021
4	Testes biológicos contra fungos, insetos e de germinação.	04/2021	07/2021
5	Análises químicas das áreas amostradas.	10/2020	09/2021
6	Extração dos óleos essenciais das folhas coletadas.	12/2020	03/2021
7	Prospecção de áreas naturais no estado de RJ, RJ e SP.	09/2020	07/2021
8	Atualização do projeto SisGen. Solicitação de autorização para ingresso a Instituto de proteção ambiental.	09/2020	11/2020
9	Coleta de dados, semelhanças e definições de áreas.	10/2020	03/2021
10	Análise estatística e comparação dos resultados.	04/2021	06/2021

**Equipe**

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Wendy Da Silva Freitas	Assistente	167.362.777-12	Brasileira
2	Egor Nunes Moraes	Assistente	143.472.737-65	Brasileira
3	Lucas Martins Paes	Assistente	157.108.577-77	Brasileira
4	RAYSSA VICENTE NASCIMENTO	Assistente	132.350.107-03	Brasileira
5	Marcos André Alves de Souza	Coordenador executor	054.677.617-90	Brasileira
6	Walter Tama	Assistente	442.133.328-88	Brasileira
7	Sandra Gomes do Nascimento	Assistente	057.975.487-12	Brasileira
8	Paulo Ricardo De Souza Faria	Assistente	080.250.239-59	Brasileira
9	Thayna Ferreira Guedes	Assistente	167.972.237-02	Brasileira

**Observações e ressalvas**

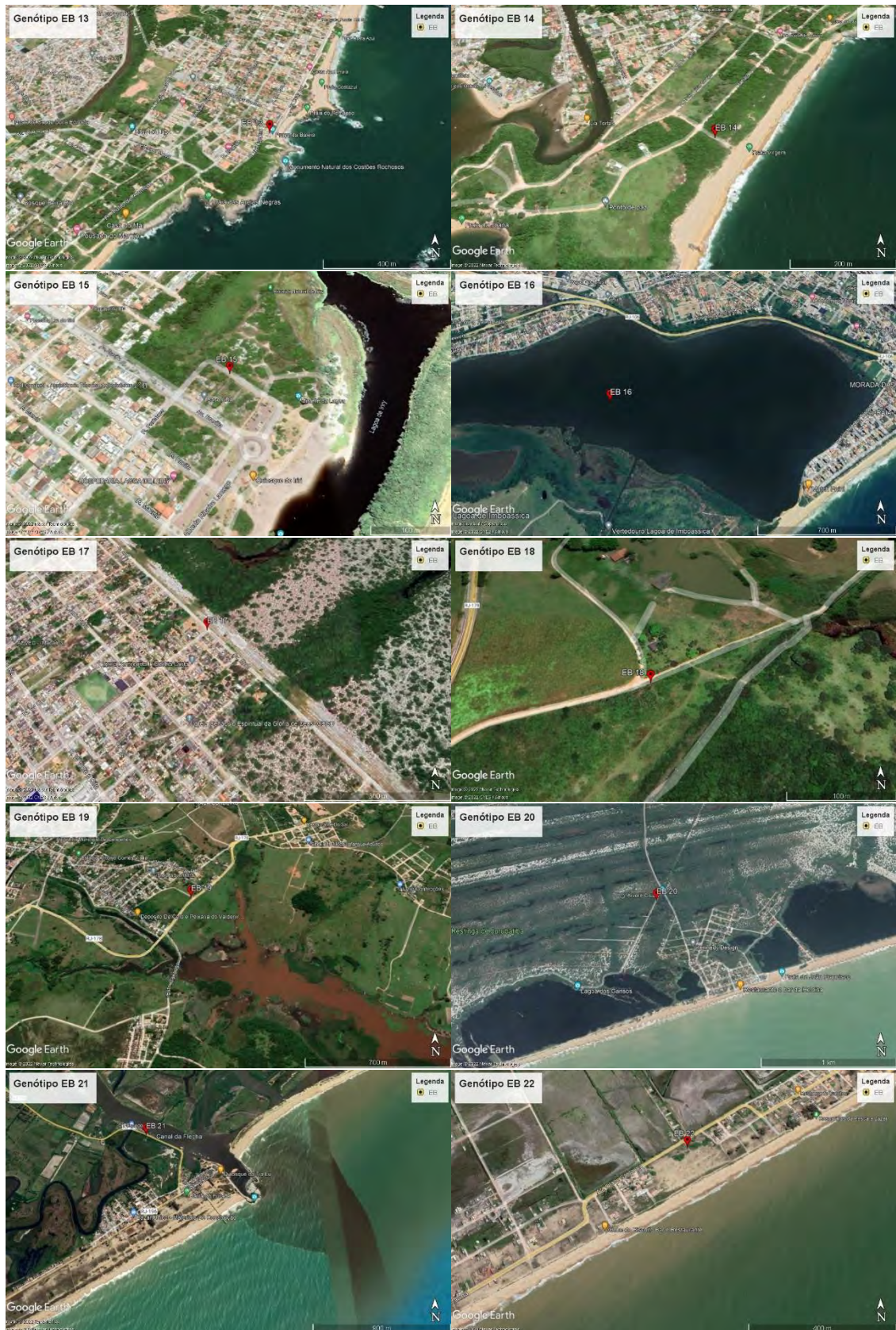
1	O interessado declara sob pena de anulação de ato de interesse ambiental a ICMBio ter ciência de que a área de proteção ambiental proposta não possui condições de ser criada e mantida de acordo com o art. 28 da IN 03/2014.
2	De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser renovada 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.
3	O Sisbio de autorização de atividades científicas com finalidade de pesquisa em áreas de proteção ambiental (Área de Proteção Ambiental) em fragmentos de mata atlântica na região Norte do Brasil do Rio de Janeiro em busca por genótipos com maior teor de Teucoflano e T-humulato a propriedades biológicas de interesse a agricultura.

Este documento foi gerado com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Atente-se ao código de autorização acima, qualquer cidadão poderá verificar a validade deste documento por meio da página do Sisbio/ICMBio no Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

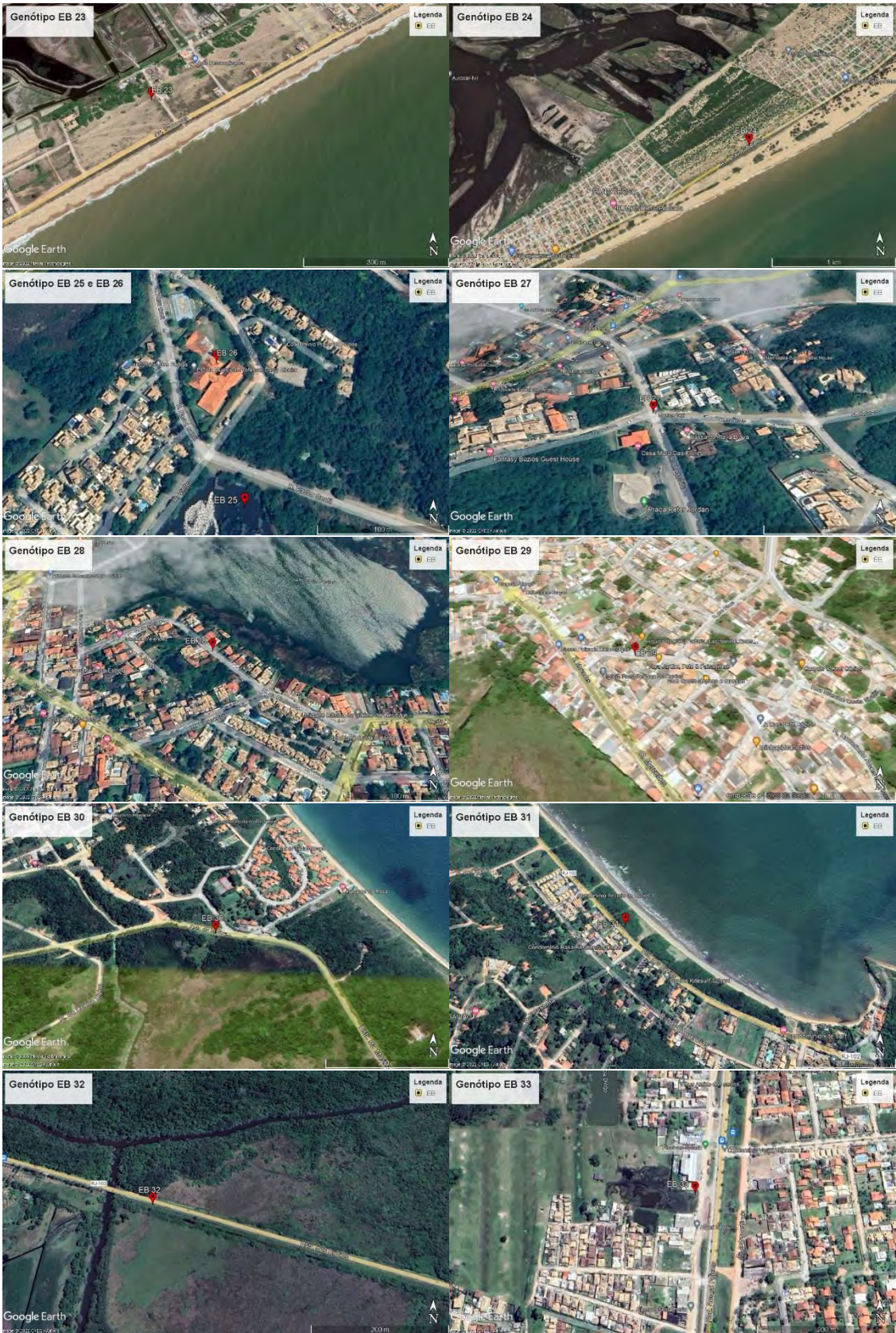
Código de autenticação: 0739060120201813 Página 3/8



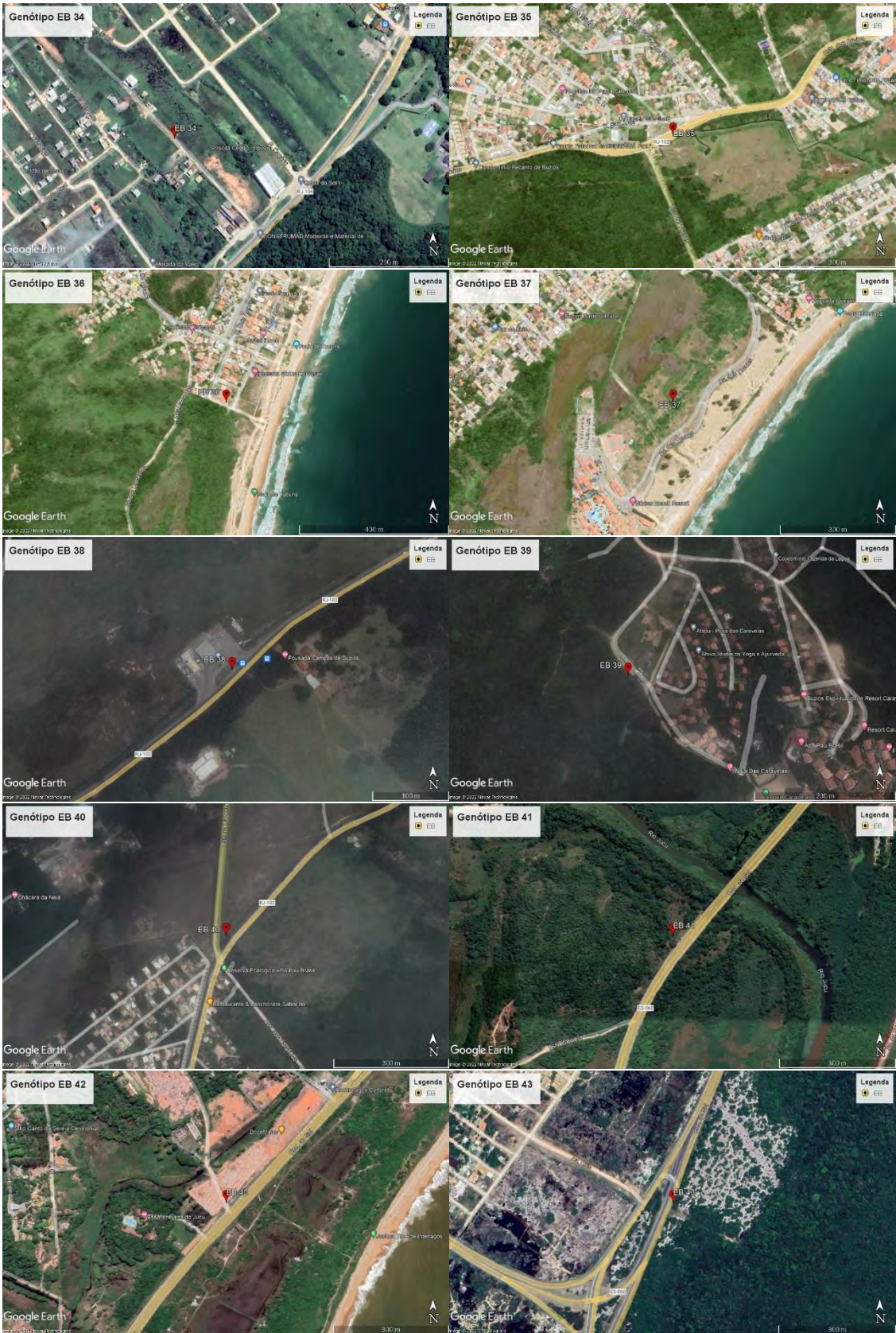
**Anexo 4.** Localizações dos 36 indivíduos (EB13 a EB48) com as suas marcações (em vermelho) com auxílio do Google Earth.















**Anexo 5.** Caracterização química dos óleos essenciais de erva baleeira.

**Tabela 6.** Caracterização química dos óleos essenciais dos indivíduos EB13 a GEB24.

Nº	Substância	Ca	TR	IRc	IRt	G13	G14	G15	G16	G17	G18	G19	G20	G21	G22	G23	G24
1	Triciclono	HM	9,558	920	921							8.7					
2	$\alpha$ -Tujeno	HM	9,748	924	924			0.5							5.3	7.5	
3	$\alpha$ -Pinoeno	HM	10,098	931	932			13.0	0.8			2.0	10.7		1.8	5.3	
4	Canfeno	HM	10,878	947	946							2.5					
5	Sabineno	HM	12,045	971	969			0.9					0.9		1.1	2.2	
6	$\beta$ -Pinoeno	HM	12,264	976	974			0.3					2.8				
7	Mirceno	HM	12,917	989	988			0.5				0.6	0.6				0.7
8	$\rho$ -Cimeno	HM	14,689	1024	1022												3.4
9	NI-14,825		14,825	1027													0.4
10	Limoneno	HM	14,916	1028	1024			0.5				0.6	0.3				2.3
11	$\beta$ - Felandreno	HM	14,986	1030	1025			0.8					0.2				
12	1,8-Cineol	MO	15,074	1032	1026			3.1				0.6	1.5		1.0	1.3	
13	(E)- $\beta$ -Ocimeno	HM	15,851	1047	1044		0.3	1.7									
14	$\gamma$ -Terpineno	HM	16,423	1058	1054			0.2							0.1	4.3	
15	Menta-2,4(8)-dieno	HM	17,788	1085	1085												0.3
16	Linalool	MO	18,619	1101	1095												0.6
17	Nonanal <n>		18,886	1106	1100			0.3									
18	<i>trans</i> -Pinocarveol	MO	20,650	1142	1135												
19	4-Terpineol	MO	22,618	1181	1174			0.4							0.4	0.5	
20	<i>Exo</i> - Acetato de Fenchila	MO	24,341	1217	1229												
21	<i>Endo</i> -Acetato de Fenchila	MO	24,352	1217	1218							0.3					
22	Acetato de óxido <i>trans</i> -linalol	MO	27,302	1280	1287												
23	Acetato de bornila	MO	27,509	1285	1284			0.9				0.6	0.8				0.6

24	NI-29,537		29,537	1333		0.3		0.1	0.2	0.3								
25	$\delta$ -Elemeno	HS	29,683	1337	1335	2.8		0.7	1.8	1.6	4.6						0.2	
26	$\alpha$ -Cubebeno	HS	30,142	1349	1348												0.2	
27	Acetato de $\alpha$ -Terpinila	MO	30,200	1350	1346			0.5									0.2	
28	Acetato de Citronelila	MO	30,309	1353	1350			0.8			0.4						1.1	
29	Eugenol	FP	30,476	1357	1356													
30	$\alpha$ -Ylangeno	HS	31,017	1371	1373		0.2				0.5	0.6					0.5	
31	NI-31,069		31,069	1372														
32	Isodoleno	HS	31,120	1373	1374												0.2	0.2
33	NI-31,228		31,228	1376														
34	$\alpha$ -Copaeno	HS	31,264	1377	1374	0.3	0.3	1.7	0.2			0.6	3.2	1.8	0.3			
35	NI-31,335		31,335	1379														1.2
36	Dauceno	HS	31,358	1380	1380												1.8	1.9
37	NI-31,400		31,400	1381													1.0	
38	$\beta$ - Bourboneno	HS	31,557	1385	1387	0.2	0.3	1.0			0.3	0.2	0.4				0.9	
39	7-epi-Sesquitujeno	HS	31,658	1387	1390													
40	$\beta$ -Cubebeno	HS	31,705	1388	1387												1.3	0.7
41	$\beta$ - Elemeno	HS	31,774	1390	1389	0.5	0.8	1.4	0.4	0.6	0.5	0.9	1.4	0.3	0.1	0.6	0.3	
42	Sesquitujeno	HS	32,211	1401	1405				1.4									
43	Sibirene	HS	32,380	1407	1400													
44	$\alpha$ - Gurjuneno	HS	32,395	1407	1409	0.4	0.4	1.7	0.3	0.7	0.5			0.4				0.3
45	NI-32,591		32,591	1414				1.7										
46	$\alpha$ -cis-Bergamoteno	HS	32,595	1414	1411				1.4									
47	NI-32,678		32,678	1416													0.8	1.0
48	$\alpha$ -Santaleno (1416) + $\beta$ -Cariofileno (1417)	HS	32,792	1420	1476+1417													
49	$\alpha$ -Santaleno	HS	32,804	1420	1416				14.0									
50	$\beta$ -Cariofileno	HS	32,839	1421	1417	8.9	7.2	13.1		2.9	6.2	12.3	16.8	5.0	1.4	11.4	0.4	

51	$\gamma$ -Elemeno	HS	33,135	1431	1434							0.4	0.2				
52	$\beta$ -Copaeno	HS	33,162	1432	1430			0.4					0.4	0.2		0.4	
53	NI-33,167		33,167	1432												0.1	
54	$\beta$ -Gurjuneno	HS	33,181	1432	1431	0.2	0.2										0.3
55	$\alpha$ -trans-Bergamoteno	HS	33,241	1434	1432				0.1							2.9	3.2
56	6,9 Guaiadieno	HS	33,311	1436	1442		0.2					0.6					
57	$\alpha$ -Guaieno	HS	33,317	1437	1437												
58	$\beta$ -Humuleno (1436) + 6,9 Guaiadieno (1442)	HS	33,342	1437	1436+1442											4.1	4.5
59	Aromadendreno	HS	33,441	1441	1439			0.2									
60	(Z)- $\beta$ -Farneseno	HS	33,490	1442	1440				0.3							1.4	1.8
61	NI-33,526		33,526	1443								0.2					
62	Acora-2,4(15)-diene	HS	33,621	1446	1444											0.6	0.7
63	<i>cis</i> -Muurolo-3,5-diene	HS	33,674	1448	1448		0.1					0.2					
64	Neril acetona	MO	33,720	1449	1434												
65	NI-33,758		33,758	1451					0.2								
66	<i>trans</i> -Muurolo-3,5-diene	HS	33,787	1452	1451		0.7					1.5	1.1				1.1
67	<i>epi</i> - Cedrane (1447) + <i>cis</i> -Muurolo-3,5-diene (1448)	HS	33,893	1455	1447+1448				0.4								
68	Sesquisabineno	HS	33,902	1455	1457												
69	(E)- $\beta$ -Farneseno	HS	33,904	1455	1454					2.4							
70	$\alpha$ -Humuleno	HS	34,004	1458	1452	3.1	1.7	3.6	2.4	0.8	1.8	3.0	5.6	1.3	0.6	3.6	0.3
71	$\beta$ -Santaleno	HS	34,093	1461	1457												
72	Allo-aromadendreno	HS	34,133	1463	1458												
73	$\beta$ - Santaleno (1457) + <i>cis</i> -Cadina-1(6), 4-diene (1461)	HS	34,137	1463	1457+1461											6.4	8.0
74	9- <i>epi</i> - (E)-Cariofileno	HS	34,147	1463	1464	3.0	1.9	9.6	2.4	3.3	3.1				3.6		
75	<i>cis</i> -Cadina-1(6),4-diene	HS	34,190	1464	1461												2.0
76	<i>cis</i> -Muurolo-4(14),5-diene	HS	34,200	1465	1465			1.4				2.7	2.2				
77	NI-34,291		34,291	1468													



78	Dauca-5,8-dieno (1471) + Germacreno D (1480)	HS	34,509	1475	1471+1480													0.7					
79	Cadina 1(6), 4-dieno trans	HS	34,509	1475	1475	0.1	0.1												0.2				
80	Dauca-5,8-dieno	HS	34,517	1475	1471														9.0	10.0			
81	$\gamma$ -Muuroleno	HS	34,604	1478	1478	0.8	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.2							1.3				
82	NI-34,615		34,615	1478																			
83	$\gamma$ -Gurjuneno	HS	34,671	1480	1475																		
84	<i>cis</i> -4,10-Epoxi-Amorfeno	SO	34,688	1480	1481															0.6			
85	NI-34,689		34,689	1480																0.8			
86	Ar-Curcumeno	HS	34,737	1482	1479																		
87	Germacreno D	HS	34,799	1484	1480	4.0	3.9	13.4	3.5	0.8	1.6	6.4	4.8	2.7	0.7	4.7	0.3						
88	NI-34,856		34,856	1486																0.6			
89	Amorpha-4,7(11)-dieno	HS	34,915	1487	1479		0.4						0.7	0.5									
90	$\delta$ -Selineno	HS	34,960	1489	1492																		
91	NI-35,033		35,033	1491																			
92	$\beta$ -Selineno	HS	35,037	1491	1489	0.2	0.2													0.3			
93	Viridifloreno	HS	35,101	1493	1496															2.0			
94	NI-35,117		35,117	1497																0.2			
95	Muurolo-4(14),5-dieno trans	HS	35,130	1494	1493	0.4	0.3													0.3	0.4		
96	$\alpha$ -Zingibereno	HS	35,148	1495	1493																		
97	<i>epi</i> -Cubebol (1493) + Viridifloreno (1496)	SO + HS	35,231	1497	1493+1496																		
98	NI-35,240		35,240	1498																	2.1		
99	Epizonareno	HS	35,241	1498	1501								1.9								2.0		
100	$\alpha$ -Selineno	HS	35,243	1498	1498																		
101	<i>epi</i> -Cubebol	SO	35,243	1498	1493																1.1		
102	Biciclogermacreno	HS	35,247	1498	1500	5.0	5.5	12.2	3.5	6.6	6.2									5.4	3.0		
103	$\alpha$ -Muuroleno	HS	35,322	1500	1500	2.1	1.1		1.0	0.8	0.9									0.4	1.6	0.6	0.2
104	Isodauceno	HS	35,397	1503	1500																2.3	2.5	

105	$\delta$ -Amorfeno	HS	35,441	1505	1511								0.6				0.2
106	trans- $\beta$ -Guaieno (1502) + $\alpha$ -Cupreneno (1505)	HS	35,449	1505	1502+1505	0.3								0.4			
107	trans- $\beta$ -Guaieno	HS	35,482	1506	1502												
108	$\beta$ - Bisaboleno	HS	35,556	1509	1505					3.2	0.4					1.1	1.2
109	Germacreno A	HS	35,588	1510	1508	0.2	0.2						0.2	0.2			
110	NI-35,620		35,620		1511												
111	(Z)- $\alpha$ -Bisabolene	HS	35,633	1502	1506												
112	NI-35,642		35,642		1512												
113	NI-35,742		35,742		1516												
114	$\gamma$ -Cadineno	HS	35,748	1516	1513	1.7	7.1	0.3	0.8	1.1	1.1	10.4	9.4	0.7	0.7	9.8	1.3
115	Acetato de Eugenila	FP	35,825	1519	1521												
116	Cubebol	SO	35,837	1519	1514											12.3	
117	NI-35,870		35,870		1521												
118	$\delta$ -Cadineno (1522) + (E)-iso- $\gamma$ -Bisaboleno (1528)	HS	35,877	1521	1522+1528												
119	NI-35,894		35,894		1522							4.7		3.4			4.1
120	$\delta$ -Cadineno	HS	35,896	1522	1522	7.0	7.4	1.9	5.8	4.1	4.2	1.5	2.6			1.6	
121	NI-35,930		35,930		1523							5.4					
122	Hediacariol	SO	35,942	1523	1546											0.5	
123	<i>trans</i> -Calameneno	HS	35,983	1525	1521												
124	<i>cis</i> -Calameneno	HS	35,992	1525	1528								0.2	0.3			0.4
125	$\beta$ -Sesquifelandreno	HS	36,012	1526	1521				0.6							0.3	0.5
126	NI-36,085		36,085		1529		1.6			3.7	3.4			2.2			2.2
127	(E)- $\gamma$ - Bisaboleno	HS	36,087	1529	1529				2.2								
128	NI-36,178		36,178		1532												
129	NI-36,233		36,233		1534												0.3
130	10- <i>epi</i> -Cubebol	HS	36,257	1535	1533		2.3						5.3	3.9		5.2	4.6
131	<i>trans</i> -Cadina-1,4-dieno	HS	36,294	1536	1533	0.3							0.4			0.4	

132	NI-36,399		36,399	1540										
133	$\alpha$ -Cadineno	HS	36,410	1541	1537	0.5	0.8	0.2	0.2	1.2	0.9		1.0	
134	NI-36,458		36,458	1542										
135	NI-36,587		36,587	1547										
136	NI-36,702		36,702	1551										
137	<i>cis</i> -Muurool-5-en-4- $\beta$ -ol	SO	36,750	1553	1550		0.2			0.5	0.4			
138	Elemol	SO	36,783	1554	1548								16.7	0.4
139	NI-36,801		36,801	1555		0.5		0.3	0.4	0.5		1.0		0.2
140	Hidrato de <i>cis</i> -Sesquisabineno	SO	36,881	1558	1542				0.5					
141	Nerolidol (E)	SO	37,022	1563	1561			0.2					0.6	0.5
142	NI-37,029		37,029	1563										
143	Germacreno B	HS	37,047	1564	1559	0.3	0.7	0.2		2.3	1.4			1.2
144	NI-37,110		37,110	1566										
145	NI-37,366		37,366	1576				0.2						
146	Palustrol	SO	37,372	1576	1567		0.1							
147	NI-37,500		37,500	1581									0.9	
148	Espathulenol	SO	37,560	1583	1577			3.4						0.8
149	Germacreno D-4-ol	SO	37,563	1583	1574	17.3	7.4		11.7	17.3	11.4	1.1	11.7	7.3
150	Óxido de cariofileno	SO	37,717	1589	1582	0.5	0.2	0.4	0.6			1.3	4.6	0.7
151	Hidrato de 7-epi- <i>cis</i> -Sesquisabineno	SO	37,835	1592	1573									
152	NI-37,845		37,845	1594										
153	Hidrato de <i>-trans</i> - Sesquisabineno (IPP vs. OH)	SO	37,851	1594	1577									
154	NI-37,994		37,994	1599							1.1	0.7		0.7
155	Viridiflorol	SO	38,032	1601	1592				0.9	0.9			0.8	
156	Globulol	SO	38,051	1601	1590	0.7	1.2	1.4	0.5					0.5
157	NI-38,063		38,063	1602							0.8	0.6		0.5
158	Carotol	SO	38,236	1609	1594								6.0	8.1

159	Epóxido de Farneseno	SO	38,275	1611	1624													
160	NI-38,289		38,289	1611														
161	Ledol	SO	38,309	1612	1602	3.2	2.5	0.9	2.1	5.6	4.4		4.1				2.0	
162	NI-38,389		38,389	1615														
163	Epóxido de Humuleno II	SO	38,408	1616	1608							0.2	0.7	0.2			0.5	
164	NI-38,508		38,508	1620														
165	Cadin-4-en-7-ol	SO	38,532	1621	1635				0.5									
166	1,10-di-epi-Cubenol	SO	38,546	1622	1618	1.0	10.1			0.5	0.5	9.3	12.9	0.4			14.0	0.2
167	NI-38,571		38,571	1623														
168	Helifolen-12-al C <anti-syn-syn->	SO	38,631	1625	1619													
169	NI-38,687		38,687	1627														
170	NI-38,715		38,715	1629		0.2	0.7					2.5	1.3				1.0	
171	Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol	SO	38,790	1632	1630													
172	Gymnomitrona	SO	38,841	1634	1632													
173	NI-38,851		38,851	1634														
174	1-epi-Cubenol	SO	38,861	1635	1627		0.3					3.7	0.2	0.8	0.5			
175	Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol(1630)+ Epóxidode alo-aromadendreno(1639)	SO	38,882	1635	1630+ 1639													
176	1-epi-Cubenol (1628)+ Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol (1630)	SO	38,885	1636	1628+1630	1.5			0.9		0.6	4.7					0.3	
177	NI-38,900		38,900	1636														
178	Epóxido de Alo-Aromadendreno	SO	38,908	1637	1639													
179	NI-38,966		38,966	1639														
180	γ-Eudesmol	SO	38,974	1639	1630												5.6	
181	α-Acorenol	SO	38,986	1640	1632													
182	NI-39,001		39,001	1640					0.5									0.3
183	NI-39,049		39,049	1642														
184	Gossonorol	SO	39,089	1644	1636													
185	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5β-ol*	SO	39,125	1645	1639													

186	NI-39,125		39,125	1645								0.2					
187	$\beta$ -Acorenol	SO	39,194	1648	1636												0.6
188	Cubenol	SO	39,220	1649	1645												
189	$\alpha$ -epi-Cadinol	SO	39,231	1650	1638	3.3	2.0	0.6	1.4	1.2	1.9	0.3	0.4	1.3		0.3	0.6
190	NI-39,268		39,268	1651										2.1			
191	$\alpha$ -epi-Muurolol	SO	39,278	1652	1640		2.4	0.5		2.1	2.9					0.6	0.8
192	epi- $\alpha$ -Muurolol (1640) + $\alpha$ -Muurolol (1644)	SO	39,289	1652	1640 + 1644	7.3			2.7								
193	NI-39,325		39,325	1654											0.9		
194	$\alpha$ -Muurolol	SO	39,333	1654	1644		1.1	0.6	0.7	0.9	1.2		1.0		0.3		0.5
195	NI-39,415		39,415	1657											0.1		
196	NI-39,450		39,450	1659													
197	NI-39,481		39,481	1660				0.2									
198	$\alpha$ -Eudesmol	SO	39,554	1663	1652												
199	$\alpha$ -Cadinol	SO	39,586	1664	1652	9.0	5.7	0.9	5.5	4.2	6.1	0.6	0.9	4.0			1.8
200	NI-39,589		39,589	1664												11.3	
201	Bergamotol, Z- $\alpha$ -trans	SO	39,612	1665	1654												
202	NI-39,631		39,631	1666													
203	Intermedeol	SO	39,653	1667	1665												
204	NI-39,667		39,667	1668													0.3
205	Ar-Turmerona	SO	39,678	1668	1668												
206	NI-39,782		39,782	1672													
207	Turmerone	SO	39,798	1673	1680												
208	NI-39,873		39,873	1676													1.3
209	(E)- $\alpha$ -Bergamotenal	SO	39,891	1677	1671												
210	14- Hidroxi-9-Epi-(E)-Cariofileno		39,917	1678	1668												
211	NI-39,930		39,930	1678													
212	Occidenol	SO	39,996	1681	1676												0.7



240	NI-41,148		41,148	1731						
241	NI-41,192		41,192	1733						
242	Farnesal <(2E,6E)->	SO	41,361	1740	1740					
243	NI-41,732		41,732	1757						
244	NI-41,767		41,767	1759						
245	7,14-Anidro-Amorfa-4,9-Dieno	SO	41,807	1760	1755					
246	12-ol- $\beta$ -(Z)-Curcumeno	SO	41,959	1765	1754					
247	(Z)-Lanceol	SO	41,961	1767	1760		0.6			
248	NI-42,050		42,050	1771						
249	NI-42,175		42,175	1777						
250	Acetato de cedrila	SO	42,215	1779	1767	7.5	3.5	0.2	0.9	
251	Acetato de (Z)- $\alpha$ - Santalol	SO	42,238	1778	1777					
252	(2E,6E)-Farnesoato de Metilo	SO	42,259	1781	1783					
253	NI-42,317		42,317	1783						
254	NI-42,623		42,623	1797						
255	NI-42,718		42,718	1801						
256	NI-42,785		42,785	1804						
257	NI-42,883		42,883	1809						
258	Calamenene 5-hydroxi-cis	SO	42,898	1810	1713					
259	Acetato de Khusinol	SO	42,907	1810	1823					
260	NI-42,985		42,985	1814						
261	(Z)- $\beta$ -Acetato de Santalol	SO	43,116	1820	1818					
262	Iso- Longifolol Acetato	SO	43,207	1824	1819		0.3	0.2	0.4	0.4
263	NI-43,291		43,291	1828						
264	(2Z,6E)-Acetato de Farnesilo	SO	43,391	1833	1821					
265	NI-43,572		43,572	1842						
266	NI-43,777		43,777	1851						



267	NI-43,812		43,812	1853										
268	NI-44,016		44,016	1863										
269	NI-44,212		44,212	1872										
270	(5E,9Z)-Farnesilacetona	SO	44,602	1891	1886									
271	NI-44,608		44,608	1891										
<hr/>														
	Hidrocarbonetos de monoterpenos		0.0	0.3	18.4	0.8	0.0	0.0	14.5	15.5	0.0	8.3	25.9	0.0
	Monoterpenos oxigenados		0.0	0.0	5.6	0.0	0.0	0.0	1.8	2.5	0.0	1.4	4.2	0.0
	Total monoterpenos		0.0	0.3	24.1	0.8	0.0	0.0	16.3	18.0	0.0	9.7	30.1	0.0
	Hidrocarbonetos de sesquiterpenos		42.0	43.9	64.2	48.3	23.2	28.8	52.6	50.0	28.1	37.0	42.6	41.0
	Sesquiterpenos oxigenados		57.5	50.5	8.9	48.2	67.4	61.8	20.7	23.0	61.1	32.6	20.0	48.1
	Total de sesquiterpenos		99.5	94.4	73.1	96.4	90.6	90.6	73.3	73.0	89.2	69.6	62.6	89.1
	Fenilpropanos (derivados)		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Outros		0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Não identificados		0.5	3.0	2.6	2.7	9.5	9.4	5.1	5.7	10.8	15.4	2.7	10.5
	<b>TOTAL</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>101</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

A composição química foi analisada por CG-EM e organizada na tabela por ordem de eluição (OE) na coluna cromatográfica. A concentração (%) foi calculada com base na área total do pico do cromatograma de íons totais (TIC). N° – número de substâncias nos óleos essenciais dos indivíduos G13 a G24. TR – Tempo de retenção para cada substância. Cl – diferentes classes de substâncias. IRc – índice de retenção calculado. IRT – índice de retenção tabelado. HM–Hidrocarbonetos de monoterpenos. MO–Monoterpenos oxigenados. HS–Hidrocarbonetos de sesquiterpenos. SO–Sesquiterpenos oxigenados. F –Fenilpropanos. NI–Não identificado. G–Indivíduo.

**Tabela 7.** Caracterização química dos óleos essenciais dos indivíduos G25 a G36.

Nº	Substância	Cl	TR	IRc	IRt	G25	G26	G27	G28	G29	G30	G31	G32	G33	G34	G35	G36
1	Triciclono	HM	9,558	920	921						6.4				5.5	1.3	6.7
2	$\alpha$ -Tujeno	HM	9,748	924	924				1.3		1.2	1.3	1.5	0.9		1.1	
3	$\alpha$ -Pinoeno	HM	10,098	931	932			9.4	1.3	2.9	11.7	10.2	11.2	9.6	1.2	8.2	1.6
4	Canfeno	HM	10,878	947	946						1.6				1.5	0.4	2.0
5	Sabineno	HM	12,045	971	969			0.5	0.4		0.6	1.0	0.8	0.7		0.9	0.3
6	$\beta$ -Pinoeno	HM	12,264	976	974			1.8	0.8	0.8		1.4	1.8	1.1		0.3	
7	Mirceno	HM	12,917	989	988			0.2			0.4	0.3	0.4	0.2	0.3		0.4
8	$\rho$ -Cimeno	HM	14,689	1024	1022												
9	NI-14,825		14,825	1027													
10	Limoneno	HM	14,916	1028	1024						0.4	0.3	0.2		0.9	0.3	0.5
11	$\beta$ - Felandreno	HM	14,986	1030	1025							0.3	0.3				
12	1,8-Cineol	MO	15,074	1032	1026			2.8		0.2	2.1	0.9	1.8	1.9	0.9	2.4	1.5
13	(E)- $\beta$ -Ocimeno	HM	15,851	1047	1044												
14	$\gamma$ -Terpineno	HM	16,423	1058	1054												
15	Menta-2,4(8)-dieno	HM	17,788	1085	1085												
16	Linalool	MO	18,619	1101	1095										0.5		
17	Nonanal <n>		18,886	1106	1100			0.3						0.2			
18	<i>trans</i> -Pinocarveol	MO	20,650	1142	1135			0.3			0.3						
19	4-Terpineol	MO	22,618	1181	1174			0.2	0.5			0.2	0.2			0.4	
20	<i>Exo</i> - Acetato de Fenchila	MO	24,341	1217	1229												0.3
21	<i>Endo</i> -Acetato de Fenchila	MO	24,352	1217	1218												
22	Acetato de óxido <i>trans</i> -linalol	MO	27,302	1280	1287												
23	Acetato de bornila	MO	27,509	1285	1284			1.4	0.6	0.4	0.7	0.7	0.8	0.5	0.3	0.4	0.5
24	NI-29,537		29,537	1333				0.6									

25	$\delta$ -Elemeno	HS	29,683	1337	1335	0.5	4.6		0.4		3.4						
26	$\alpha$ -Cubebeno	HS	30,142	1349	1348				2.2								
27	Acetato de $\alpha$ -Terpinila	MO	30,200	1350	1346		0.3									0.2	
28	Acetato de Citronelila	MO	30,309	1353	1350				0.7	0.4	0.3	0.5	0.4	0.2	0.6		
29	Eugenol	FP	30,476	1357	1356			0.4									
30	$\alpha$ -Ylangeno	HS	31,017	1371	1373		0.8	0.5		0.5							
31	NI-31,069		31,069	1372													
32	Isodoleno	HS	31,120	1373	1374												
33	NI-31,228		31,228	1376													
34	$\alpha$ -Copaeno	HS	31,264	1377	1374		4.2	0.9	1.4	0.9					0.3	0.4	
35	NI-31,335		31,335	1379													
36	Dauceno	HS	31,358	1380	1380		2.1										
37	NI-31,400		31,400	1381													
38	$\beta$ - Bourboneno	HS	31,557	1385	1387			0.8	0.5	0.4	0.3						
39	7-epi-Sesquitujeno	HS	31,658	1387	1390												
40	$\beta$ -Cubebeno	HS	31,705	1388	1387		1.2			0.9							
41	$\beta$ - Elemeno	HS	31,774	1390	1389		1.0	6.1	0.3	0.4	1.3	2.0	0.2	0.5		0.7	0.6
42	Sesquitujeno	HS	32,211	1401	1405	2.4				2.4		3.5	2.5	2.7	3.2	3.3	
43	Sibirene	HS	32,380	1407	1400					0.7							
44	$\alpha$ - Gurjuneno	HS	32,395	1407	1409												
45	NI-32,591		32,591	1414													
46	$\alpha$ -cis-Bergamoteno	HS	32,595	1414	1411	1.9				1.4		3.2	2.2	2.2	2.2	3.3	
47	NI-32,678		32,678	1416			1.0										
48	$\alpha$ -Santaleno (1416) + $\beta$ -Cariofileno (1417)	HS	32,792	1420	1416+1417												
49	$\alpha$ -Santaleno	HS	32,804	1420	1416	13.2				14.7		20.0	22.0	15.5	17.4	19.4	
50	$\beta$ -Cariofileno	HS	32,839	1421	1417		2.3	15.1	15.8	9.2	14.9						
51	$\gamma$ -Elemeno	HS	33,135	1431	1434						0.2						

52	$\beta$ -Copaeno	HS	33,162	1432	1430												0.2	
53	NI-33,167		33,167	1432														
54	$\beta$ -Gurjuneno	HS	33,181	1432	1431													
55	$\alpha$ -trans-Bergamoteno	HS	33,241	1434	1432			3.7		0.2			0.4	0.3	0.3	0.3	0.4	
56	6,9 Guaiadieno	HS	33,311	1436	1442			0.3		1.6		0.3						
57	$\alpha$ -Guaieno	HS	33,317	1437	1437					0.4								
58	$\beta$ -Humuleno (1436) + 6,9 Guaiadieno (1442)	HS	33,342	1437	1436+1442	5.5												
59	Aromadendreno	HS	33,441	1441	1439													
60	(Z)- $\beta$ -Farneseno	HS	33,490	1442	1440		0.5			0.5			0.7	0.7	0.5	0.6	0.6	
61	NI-33,526		33,526	1443														
62	Acora-2,4(15)-diene	HS	33,621	1446	1444			0.8					0.2					
63	cis-Muurolo-3,5-diene	HS	33,674	1448	1448													
64	Neril acetona	MO	33,720	1449	1434													
65	NI-33,758		33,758	1451													0.4	
66	trans-Muurolo-3,5-diene	HS	33,787	1452	1451				1.4	4.1		1.3						
67	epi- Cedrane (1447) + cis-Muurolo-3,5-diene (1448)	HS	33,893	1455	1447+1448													
68	Sesquisabineno	HS	33,902	1455	1457		3.7			3.7			5.2	3.9	4.0	4.6	4.6	
69	(E)- $\beta$ -Farneseno	HS	33,904	1455	1454			1.6										
70	$\alpha$ -Humuleno	HS	34,004	1458	1452		1.9	0.6	5.2	3.3	1.4	2.6	2.8	2.8	5.3	1.1	2.1	2.8
71	$\beta$ -Santaleno	HS	34,093	1461	1457		1.5				1.1		2.0	1.5	1.4	1.6	2.2	
72	Allo-aromadendreno	HS	34,133	1463	1458				0.5		0.4	1.3						
73	$\beta$ - Santaleno (1457) + cis-Cadina-1(6), 4-diene (1461)	HS	34,137	1463	1457+1461	8.6												
74	9- epi- (E)-Cariofileno	HS	34,147	1463	1464												0.8	
75	cis-Cadina-1(6),4-diene	HS	34,190	1464	1461					2.3	0.9		2.6					
76	cis-Muurolo-4(14),5-diene	HS	34,200	1465	1465												1.0	
77	NI-34,291		34,291	1468														
78	Dauca-5,8-diene (1471) + Germacreno D (1480)	HS	34,509	1475	1471+1480	7.4					0.6							

79	Cadina 1(6), 4-dieno trans	HS	34,509	1475	1475													
80	Dauca-5,8-dieno	HS	34,517	1475	1471													
81	$\gamma$ -Muuroleno	HS	34,604	1478	1478													
82	NI-34,615		34,615	1478				1.5										
83	$\gamma$ -Gurjuneno	HS	34,671	1480	1475													
84	<i>cis</i> -4,10-Epoxi-Amorfeno	SO	34,688	1480	1481													
85	NI-34,689		34,689	1480														
86	Ar-Curcumeno	HS	34,737	1482	1479													
87	Germacreno D	HS	34,799	1484	1480	1.0	3.7	3.9	2.3	4.5	7.5	0.6	3.5	3.0	3.1	3.3		
88	NI-34,856		34,856	1486		1.5			1.2			1.6	1.1	1.3	1.5	1.5		
89	Amorpha-4,7(11)-dieno	HS	34,915	1487	1479													
90	$\delta$ -Selineno	HS	34,960	1489	1492		0.4											
91	NI-35,033		35,033	1491						0.4								
92	$\beta$ -Selineno	HS	35,037	1491	1489		1.0				0.4							
93	Viridifloreno	HS	35,101	1493	1496													
94	NI-35,117		35,117	1497														
95	Muurola-4(14),5-dieno trans	HS	35,130	1494	1493					3.6	0.5							
96	$\alpha$ -Zingibereno	HS	35,148	1495	1493													
97	epi-Cubebol (1493) + Viridifloreno (1496)	SO + HS	35,231	1497	1493+1496													
98	NI-35,240		35,240	1498														
99	Epizonareno	HS	35,241	1498	1501			2.0	0.6							0.6		
100	$\alpha$ -Selineno	HS	35,243	1498	1498		1.5				3.4							
101	epi-Cubebol	SO	35,243	1498	1493					1.5								
102	Biciclogermacreno	HS	35,247	1498	1500	1.1										0.3		
103	$\alpha$ -Muuroleno	HS	35,322	1500	1500			1.2	0.4		0.6	0.4						
104	Isodauceno	HS	35,397	1503	1500	2.8												
105	$\delta$ -Amorfeno	HS	35,441	1505	1511					2.5								

106	trans- $\beta$ -Guaieno (1502) + $\alpha$ -Cupreneno (1505)	HS	35,449	1505	1502+1505				0.4								
107	trans- $\beta$ -Guaieno	HS	35,482	1506	1502					8.2		0.3					
108	$\beta$ - Bisaboleno	HS	35,556	1509	1505	4.6	1.4		4.5		6.3	4.6	5.1	5.9	5.8		
109	Germacreno A	HS	35,588	1510	1508			0.9			0.6						
110	NI-35,620		35,620	1511		0.4					0.4	0.3		0.3	0.5		
111	(Z)- $\alpha$ -Bisabolene	HS	35,633	1502	1506												
112	NI-35,642		35,642	1512										0.3			
113	NI-35,742		35,742	1516							0.2						
114	$\gamma$ -Cadineno	HS	35,748	1516	1513		1.6		13.4	5.6	11.2			6.4			
115	Acetato de Eugenila	FP	35,825	1519	1521	0.8											
116	Cubebol	SO	35,837	1519	1514			2.2	7.3	3.5							
117	NI-35,870		35,870	1521								1.2	0.5	1.5	1.8	0.9	
118	$\delta$ -Cadineno (1522) + (E)-iso- $\gamma$ -Bisaboleno (1528)	HS	35,877	1521	1522+1528			0.8									
119	NI-35,894		35,894	1522		2.9	1.9										
120	$\delta$ -Cadineno	HS	35,896	1522	1522		1.5				2.3						
121	NI-35,930		35,930	1523													
122	Hedycariol	SO	35,942	1523	1546												
123	<i>trans</i> -Calameneno	HS	35,983	1525	1521				0.6	7.0							
124	<i>cis</i> -Calameneno	HS	35,992	1525	1528												
125	$\beta$ -Sesquifelandreno	HS	36,012	1526	1521	1.1			1.0		0.4	1.3	0.9	1.1	1.1	1.1	
126	NI-36,085		36,085	1529			1.4										
127	(E)- $\gamma$ - Bisaboleno	HS	36,087	1529	1529	1.4			1.3		2.7	1.5	1.9	1.8	2.3		
128	NI-36,178		36,178	1532						0.3							
129	NI-36,233		36,233	1534													
130	10- <i>epi</i> -Cubebol	HS	36,257	1535	1533				2.3		4.5			2.6			
131	<i>trans</i> -Cadina-1,4-dieno	HS	36,294	1536	1533					4.5							
132	NI-36,399		36,399	1540						1.5							

133	$\alpha$ -Cadineno	HS	36,410	1541	1537						0.5	1.2		0.6					
134	NI-36,458		36,458	1542							0.1								
135	NI-36,587		36,587	1547				0.6											
136	NI-36,702		36,702	1551												0.3			
137	cis-Muurool-5-en-4- $\beta$ -ol	SO	36,750	1553	1550						0.5								
138	Elemol	SO	36,783	1554	1548				0.2		0.3		0.6						
139	NI-36,801		36,801	1555							0.3								
140	Hidrato de <i>cis</i> -Sesquisabineno	SO	36,881	1558	1542			2.8			0.2		0.3	0.2	1.2	0.3	0.3		
141	Nerolidol (E)	SO	37,022	1563	1561			1.3	0.8				0.3			0.5	0.7		
142	NI-37,029		37,029	1563							1.2	0.5							
143	Germacreno B	HS	37,047	1564	1559					0.9		0.7	1.6	0.6	0.6				
144	NI-37,110		37,110	1566				0.3											
145	NI-37,366		37,366	1576															
146	Palustrol	SO	37,372	1576	1567														
147	NI-37,500		37,500	1581															
148	Espathulenol	SO	37,560	1583	1577			0.6				0.5	0.6	0.2			0.3		
149	Germacreno D-4-ol	SO	37,563	1583	1574				5.6						0.5				
150	Óxido de cariofileno	SO	37,717	1589	1582			5.3	0.8	3.5	8.6	1.7	1.6	2.3	2.0	1.7	1.5	3.0	5.7
151	Hidrato de 7-epi- <i>cis</i> -Sesquisabineno	SO	37,835	1592	1573														
152	NI-37,845		37,845	1594								3.7							
153	Hidrato de <i>-trans</i> - Sesquisabineno (IPP vs. OH)	SO	37,851	1594	1577			6.2				1.3		1.7	1.3		1.7	1.6	
154	NI-37,994		37,994	1599								1.3	0.5	0.8		0.6	0.2		
155	Viridiflorol	SO	38,032	1601	1592														
156	Globulol	SO	38,051	1601	1590							3.2							
157	NI-38,063		38,063	1602						0.6	0.8	0.3		0.5		0.3			
158	Carotol	SO	38,236	1609	1594			8.4	0.3										
159	Epóxido de Farneseno	SO	38,275	1611	1624														



160	NI-38,289		38,289	1611		0.4											
161	Ledol	SO	38,309	1612 1602		1.9				0.8							
162	NI-38,389		38,389	1615													
163	Epóxido de Humuleno II	SO	38,408	1616 1608		0.5	0.7	0.9	1.0	0.3	0.3		0.3	0.3	0.3	0.4	0.8
164	NI-38,508		38,508	1620				0.4									
165	Cadin-4-en-7-ol	SO	38,532	1621 1635													
166	1,10-di-epi-Cubenol	SO	38,546	1622 1618					20.0	8.7		14.4			10.1		
167	NI-38,571		38,571	1623													0.3
168	Helifolen-12-al C <anti-syn-syn->	SO	38,631	1625 1619													
169	NI-38,687		38,687	1627										0.5			
170	NI-38,715		38,715	1629				0.7	1.1	0.6		1.2					
171	Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol	SO	38,790	1632 1630													
172	Gymnomitrona	SO	38,841	1634 1632													
173	NI-38,851		38,851	1634													
174	1-epi-Cubenol	SO	38,861	1635 1627													
175	Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol(1630)+Epóxidode alo-aromadendreno(1639)	SO	38,882	1635 1630+1639	7.3												
176	1-epi-Cubenol (1628)+ Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol (1630)	SO	38,885	1636 1628+1630					14.5		1.1			4.7			
177	NI-38,900		38,900	1636													
178	Epóxido de Alo-Aromadendreno	SO	38,908	1637 1639					0.2								
179	NI-38,966		38,966	1639													
180	γ-Eudesmol	SO	38,974	1639 1630													
181	α-Acorenol	SO	38,986	1640 1632													0.2
182	NI-39,001		39,001	1640													
183	NI-39,049		39,049	1642													
184	Gossonorol	SO	39,089	1644 1636		0.5											
185	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5β-ol*	SO	39,125	1645 1639													
186	NI-39,125		39,125	1645													

187	$\beta$ -Acorenol	SO	39,194	1648	1636														
188	Cubenol	SO	39,220	1649	1645							2.3							
189	$\alpha$ -epi-Cadinol	SO	39,231	1650	1638														
190	NI-39,268		39,268	1651															
191	$\alpha$ -epi-Muurolol	SO	39,278	1652	1640														
192	epi- $\alpha$ -Muurolol (1640) + $\alpha$ -Muurolol (1644)	SO	39,289	1652	1640 +1644														
193	NI-39,325		39,325	1654															
194	$\alpha$ -Muurolol	SO	39,333	1654	1644														
195	NI-39,415		39,415	1657															
196	NI-39,450		39,450	1659															
197	NI-39,481		39,481	1660															
198	$\alpha$ -Eudesmol	SO	39,554	1663	1652														
199	$\alpha$ -Cadinol	SO	39,586	1664	1652														
200	NI-39,589		39,589	1664															
201	Bergamotol, <i>Z</i> - $\alpha$ -trans,	SO	39,612	1665	1654														
202	NI-39,631		39,631	1666															
203	Intermedeol	SO	39,653	1667	1665														
204	NI-39,667		39,667	1668															
205	Ar-Turmerona	SO	39,678	1668	1668														
206	NI-39,782		39,782	1672															
207	Turmerone -	SO	39,798	1673	1680														
208	NI-39,873		39,873	1676															
209	(E)- $\alpha$ -Bergamotenal	SO	39,891	1677	1671														
210	14- Hidroxi-9-Epi-(E)-Cariofileno	SO	39,917	1678	1668														
211	NI-39,930		39,930	1678															
212	Occidenol	SO	39,996	1681	1676														
213	NI-40,041		40,041	1683															

214	(Z)- $\alpha$ -Santalol (1674) + contaminado	SO	40,078	1685	1674+										
215	(Z)- $\alpha$ -Santalol	SO	40,099	1685	1674	3.0		1.4	0.5	0.4	0.7	1.7	0.9		
216	NI-40,104		40,104	1686			1.1								
217	(E)- $\alpha$ -Santalol	SO	40,127	1687	1680	9.1		3.2	7.6	6.9	3.8	8.9	5.4		
218	2,3-dihidro-Farnesol	SO	40,205	1690	1688										
219	NI-40,249		40,249	1692											
220	$\alpha$ -Bisabolol	SO	40,275	1693	1685						0.7				
221	(Z)- $\alpha$ - trans-Bergamotol	SO	40,287	1693	1690	6.5		7.8	1.9		5.6	3.0	2.9		
222	$\alpha$ - <i>epi</i> - Bisabolol	SO	40,292	1693	1683										
223	Cis 14- Nor muurol-5-En-4-ona	SO	40,303	1693	1688			0.8							
224	NI-40,317		40,317	1694											
225	NI-40,383		40,383	1697						0.4					
226	NI-40,433		40,433	1699											0.5
227	NI-40,463		40,463	1700											
228	NI-40,531		40,531	1703											
229	(Z)- <i>epi</i> - $\beta$ -Santalol	SO	40,543	1704	1702	3.7		8.7	1.2		3.6	2.0	1.4		
230	Shyobunol	SO	40,554	1704	1688		17.2								
231	NI-40,575		40,575	1705											
232	NI-40,650		40,650	1709											
233	Farnesal <(2E,6Z)->	SO	40,739	1713	1713										
234	NI-40,759		40,759	1708		0.6									
235	NI-40,830		40,830	1717											
236	Farnesol <(2E,6Z)->	SO	40,856	1718	1714										
237	Farnesol <(2Z,6E)->	SO	40,864	1718	1722										
238	NI-40,900		40,900	1715		0.4									
239	(Z)- $\beta$ -Santalol	SO	41,086	1723	1715	1.4		0.2	0.7	0.7	0.3	0.9	0.5		
240	NI-41,148		41,148	1731											

241	NI-41,192		41,192	1733		0.6	0.3								
242	Farnesal <(2E,6E)->	SO	41,361	1740	1740										
243	NI-41,732		41,732	1757											
244	NI-41,767		41,767	1759											
245	7,14-Anidro-Amorfa-4,9-Dieno	SO	41,807	1760	1755										
246	12-ol-β-(Z)-Curcumeno	SO	41,959	1765	1754	2.8									
247	(Z)-Lanceol	SO	41,961	1767	1760			1.9		1.7	1.5	0.9	0.7	1.1	
248	NI-42,050		42,050	1771				0.1							
249	NI-42,175		42,175	1777											
250	Acetato de cedrila	SO	42,215	1779	1767										
251	Acetato de (Z)-α- Santalol	SO	42,238	1778	1777	2.3		1.9		1.3	1.1	0.7	0.6	0.7	
252	(2E,6E)-Farnesoato de Metilo	SO	42,259	1781	1783										
253	NI-42,317		42,317	1783				0.3							
254	NI-42,623		42,623	1797				0.9							
255	NI-42,718		42,718	1801											
256	NI-42,785		42,785	1804				0.3							
257	NI-42,883		42,883	1809					0.1						
258	Calamenene 5-hidroxi-cis	SO	42,898	1810	1713				0.5						
259	Acetato de Khusinol	SO	42,907	1810	1823										
260	NI-42,985		42,985	1814					0.5						
261	(Z)-β-Acetato de Santalol	SO	43,116	1820	1818	0.4			0.3						
262	Iso- Longifolol Acetato	SO	43,207	1824	1819		3.5								
263	NI-43,291		43,291	1828					0.5						
264	(2Z,6E)-Acetato de Farnesilo	SO	43,391	1833	1821										
265	NI-43,572		43,572	1842		0.3									
266	NI-43,777		43,777	1851				1.4							
267	NI-43,812		43,812	1853											

268	NI-44,016		44,016	1863										
269	NI-44,212		44,212	1872										
270	(5E,9Z)-Farnesilacetona	SO	44,602	1891	1886									
271	NI-44,608		44,608	1891										
<hr/>														
	Hidrocarbonetos de monoterpenos		0.0	0.0	12.0	3.8	3.7	22.3	14.7	16.1	12.4	9.3	12.5	11.5
	Monoterpenos oxigenados		0.0	0.0	5.1	1.1	0.7	3.8	2.3	3.0	3.5	1.7	3.7	2.9
	Total monoterpenos		0.0	0.0	17.1	4.9	4.3	26.2	16.9	19.1	15.9	11.0	16.2	14.5
	Hidrocarbonetos de sesquiterpenos		33.1	43.8	47.6	48.1	43.6	56.3	56.6	48.9	53.8	48.0	44.9	50.3
	Sesquiterpenos oxigenados		54.2	50.3	26.2	39.6	41.8	16.8	19.4	27.0	26.6	34.0	34.4	31.1
	Total de sesquiterpenos		87.3	94.1	73.8	87.7	85.3	73.2	76.0	75.9	80.4	81.9	79.3	81.4
	Fenilpropanos (derivados)		0.8	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Outros		0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
	Não identificados		11.9	6.0	8.9	7.0	8.0	0.7	2.5	5.0	3.5	4.5	4.5	4.5
	<b>TOTAL</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

A composição química foi analisada por CG-EM e organizada na tabela por ordem de eluição (OE) na coluna cromatográfica. A concentração (%) foi calculada com base na área total do pico do cromatograma de íons totais (TIC). N° – número de substâncias nos óleos essenciais dos indivíduos G25 a G36. TR – Tempo de retenção para cada substância. Cl – diferentes classes de substâncias. IRc – índice de retenção calculado. IRT – índice de retenção tabelado. HM–Hidrocarbonetos de monoterpenos. MO–Monoterpenos oxigenados. HS–Hidrocarbonetos de sesquiterpenos. SO–Sesquiterpenos oxigenados. F –Fenilpropanos. NI–Não identificado. G–Indivíduo.

**Tabela 8.**Caracterização química dos óleos essenciais dos indivíduos G37 a G48.

Nº	Substância	CI	TRA	IRLc	IRLt	G37	G38	G39	G40	G41	G42	G43	G44	G45	G46	G47	G48
1	Triciclono	HM	9,558	920	921	8.7			8.6								
2	$\alpha$ -Tujeno	HM	9,748	924	924		2.0	4.0		0.3		1.5					4.4
3	$\alpha$ -Pinoeno	HM	10,098	931	932	2.5	10.2	7.1	2.1	9.7	2.3	13.4	1.4	8.4	3.0	6.7	7.7
4	Canfeno	HM	10,878	947	946	3.0			2.6								
5	Sabineno	HM	12,045	971	969	0.5	1.1	1.2	0.5	0.2		0.7					0.9
6	$\beta$ -Pinoeno	HM	12,264	976	974	0.5	3.9	4.4	0.3			0.9					
7	Mirceno	HM	12,917	989	988	0.7	0.6	0.5	0.4			0.5					
8	$\rho$ -Cimeno	HM	14,689	1024	1022												
9	NI-14,825		14,825	1027													
10	Limoneno	HM	14,916	1028	1024	0.8			0.5			0.3					
11	$\beta$ - Felandreno	HM	14,986	1030	1025							0.5					
12	1,8-Cineol	MO	15,074	1032	1026	2.6	1.6	0.9	2.9	0.5		0.9		0.7		1.0	0.3
13	(E)- $\beta$ -Ocimeno	HM	15,851	1047	1044												
14	$\gamma$ -Terpineno	HM	16,423	1058	1054												
15	Menta-2,4(8)-diene	HM	17,788	1085	1085												
16	Linalool	MO	18,619	1101	1095				0.2			0.3					0.8
17	Nonanal <n>		18,886	1106	1100	0.2			0.2						0.4		
18	<i>trans</i> -Pinocarveol	MO	20,650	1142	1135												
19	4-Terpineol	MO	22,618	1181	1174		0.4	0.4									
20	<i>Exo</i> - Acetato de Fenchila	MO	24,341	1217	1229												
21	<i>Endo</i> -Acetato de Fenchila	MO	24,352	1217	1218	0.3			0.4								





49	$\alpha$ -Santaleno	HS	32,804	1420	1416	13.2	14.7	16.4									
50	$\beta$ -Cariofileno	HS	32,839	1421	1417				14.9	7.6	10.3	19.8	3.7		19.1	13.5	7.0
51	$\gamma$ -Elemeno	HS	33,135	1431	1434												
52	$\beta$ -Copaeno	HS	33,162	1432	1430												
53	NI-33,167		33,167	1432													
54	$\beta$ -Gurjuneno	HS	33,181	1432	1431							2.5					
55	$\alpha$ -trans-Bergamoteno	HS	33,241	1434	1432	0.4	0.3	0.4	6.2	5.2		4.4		2.6	1.3	4.6	
56	6,9 Guaiadieno	HS	33,311	1436	1442												
57	$\alpha$ -Guaieno	HS	33,317	1437	1437												
58	$\beta$ -Humuleno (1436) + 6,9 Guaiadieno (1442)	HS	33,342	1437	1436+1442	6.3	1.0	5.1		3.5	1.6	6.0					
59	Aromadendreno	HS	33,441	1441	1439												
60	(Z)- $\beta$ -Farneseno	HS	33,490	1442	1440	0.7	0.4	0.6						0.5	0.7		
61	NI-33,526		33,526	1443													1.5
62	Acora-2,4(15)-diene	HS	33,621	1446	1444				1.4	1.1		1.1		0.4		1.0	
63	<i>cis</i> -Muurolo-3,5-diene	HS	33,674	1448	1448												
64	Neril acetona	MO	33,720	1449	1434				0.5								
65	NI-33,758		33,758	1451													0.8
66	<i>trans</i> -Muurolo-3,5-diene	HS	33,787	1452	1451												
67	<i>epi</i> - Cedrane (1447) + <i>cis</i> -Muurolo-3,5-diene (1448)	HS	33,893	1455	1447+1448												
68	Sesquisabineno	HS	33,902	1455	1457			4.5									
69	(E)- $\beta$ -Farneseno	HS	33,904	1455	1454	4.5	2.8		2.9	2.5		2.1	1.0	4.4	4.9	2.3	
70	$\alpha$ -Humuleno	HS	34,004	1458	1452	1.7	1.5	1.6	4.3	2.0	6.3	11.1	0.9	1.2	2.5	1.6	2.1
71	$\beta$ -Santaleno	HS	34,093	1461	1457	1.9	1.1	1.7									
72	Allo-aromadendreno	HS	34,133	1463	1458		0.5		0.7			7.2					
73	$\beta$ - Santaleno (1457) + <i>cis</i> -Cadina-1(6), 4-diene (1461)	HS	34,137	1463	1457+1461	8.1		7.8		4.2	2.8	7.5					
74	9- <i>epi</i> - (E)-Cariofileno	HS	34,147	1463	1464												
75	<i>cis</i> -Cadina-1(6),4-diene	HS	34,190	1464	1461		1.2										

76	<i>cis</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	HS	34,200	1465	1465													
77	NI-34,291		34,291	1468								0.5						
78	Dauca-5,8-dieno (1471) + Germacreno D (1480)	HS	34,509	1475	1471+1480			2.0			4.9							
79	Cadina 1(6), 4-dieno trans	HS	34,509	1475	1475													
80	Dauca-5,8-dieno	HS	34,517	1475	1471						13.0	10.6	9.9			3.9	9.9	
81	$\gamma$ -Muuroloeno	HS	34,604	1478	1478							0.7				0.8		
82	NI-34,615		34,615	1478														
83	$\gamma$ -Gurjuneno	HS	34,671	1480	1475						0.3		0.3					
84	<i>cis</i> -4,10-Epoxi-Amorfeno	SO	34,688	1480	1481													
85	NI-34,689		34,689	1480														
86	Ar-Curcumeno	HS	34,737	1482	1479													0.7
87	Germacreno D	HS	34,799	1484	1480	1.8	2.4	2.0	0.5	1.1	1.2	9.3				1.8	1.8	
88	NI-34,856		34,856	1486		1.6	1.1	1.5								0.9	1.2	
89	Amorpha-4,7(11)-dieno	HS	34,915	1487	1479													
90	$\delta$ -Selineno	HS	34,960	1489	1492													
91	NI-35,033		35,033	1491														
92	$\beta$ -Selineno	HS	35,037	1491	1489													
93	Viridifloreno	HS	35,101	1493	1496													
94	NI-35,117		35,117	1497														
95	Muurolo-4(14),5-dieno trans	HS	35,130	1494	1493						0.4	0.4						
96	$\alpha$ -Zingibereno	HS	35,148	1495	1493													1.8
97	<i>epi</i> -Cubebol (1493) + Viridifloreno (1496)	SO+HS	35,231	1497	1493+1496													
98	NI-35,240		35,240	1498														
99	Epizonareno	HS	35,241	1498	1501			0.9										
100	$\alpha$ -Selineno	HS	35,243	1498	1498													
101	<i>epi</i> -Cubebol	SO	35,243	1498	1493													
102	Biciclogermacreno	HS	35,247	1498	1500						0.5	0.9	2.4		1.1		1.4	

103	$\alpha$ - Muuroleno	HS	35,322	1500	1500												
104	Isodauceno	HS	35,397	1503	1500				4.4	3.7	0.5	3.5		2.0	0.9	3.3	
105	$\delta$ -Amorfenoleno	HS	35,441	1505	1511		1.3		0.2								0.4
106	trans- $\beta$ -Guaïeno (1502) + $\alpha$ -Cupreneno (1505)	HS	35,449	1505	1502+1505							6.4					
107	trans- $\beta$ -Guaïeno	HS	35,482	1506	1502												
108	$\beta$ - Bisaboleno	HS	35,556	1509	1505	5.7	3.8	5.1	2.4	2.1		0.6	1.1	4.3	4.9	1.5	
109	Germacreno A	HS	35,588	1510	1508							0.8					
110	NI-35,620		35,620	1511		2.6		0.4									
111	(Z)- $\alpha$ -Bisaboleno	HS	35,633	1502	1506	0.2											
112	NI-35,642		35,642	1512													
113	NI-35,742		35,742	1516													
114	$\gamma$ -Cadineno	HS	35,748	1516	1513		6.1		1.6	1.4		1.1		0.6	0.4	1.2	
115	Acetato de Eugenila	FP	35,825	1519	1521												
116	Cubebol	SO	35,837	1519	1514						0.8						
117	NI-35,870		35,870	1521				2.6						1.0	1.1		
118	$\delta$ -Cadineno (1522) + (E)-iso- $\gamma$ -Bisaboleno (1528)	HS	35,877	1521	1522+1528												
119	NI-35,894		35,894	1522													
120	$\delta$ -Cadineno	HS	35,896	1522	1522				0.2	0.4	5.4						
121	NI-35,930		35,930	1523													
122	Hediacariol	SO	35,942	1523	1546												
123	trans-Calameneno	HS	35,983	1525	1521												
124	cis-Calameneno	HS	35,992	1525	1528												
125	$\beta$ -Sesquifelandreno	HS	36,012	1526	1521	1.1	0.9	1.1	0.8	0.8		0.8		0.6	0.8	0.6	
126	NI-36,085		36,085	1529													
127	(E)- $\gamma$ - Bisaboleno	HS	36,087	1529	1529	2.0	1.3	2.1							1.4		
128	NI-36,178		36,178	1532													0.7
129	NI-36,233		36,233	1534					0.2	0.4							

130	10- <i>epi</i> -Cubebol	HS	36,257	1535	1533		1.6										
131	<i>trans</i> -Cadina-1,4-dieno	HS	36,294	1536	1533												
132	NI-36,399		36,399	1540													
133	$\alpha$ -Cadineno	HS	36,410	1541	1537		0.4										
134	NI-36,458		36,458	1542													
135	NI-36,587		36,587	1547				0.4		0.3							
136	NI-36,702		36,702	1551													
137	<i>cis</i> -Muurool-5-en-4- $\beta$ -ol	SO	36,750	1553	1550												
138	Elemol	SO	36,783	1554	1548		0.3										
139	NI-36,801		36,801	1555					0.4								
140	Hidrato de <i>cis</i> -Sesquisabineno	SO	36,881	1558	1542	0.4	0.9	1.8						1.0	0.4		
141	Nerolidol (E)	SO	37,022	1563	1561	0.5	0.8	0.4	1.6	1.8	1.3			1.2	0.9	1.7	
142	NI-37,029		37,029	1563													
143	Germacreno B	HS	37,047	1564	1559												
144	NI-37,110		37,110	1566												0.3	
145	NI-37,366		37,366	1576													
146	Palustrol	SO	37,372	1576	1567												
147	NI-37,500		37,500	1581					0.8					0.5		0.6	
148	Espathulenol	SO	37,560	1583	1577	0.4		1.1					0.6		1.1		
149	Germacreno D-4-ol	SO	37,563	1583	1574		0.4			1.1	0.5						
150	Óxido de cariofileno	SO	37,717	1589	1582	3.4	2.0	3.6	11.8	0.8	1.5	1.0	0.4	1.3	6.0	1.4	0.6
151	Hidrato de 7- <i>epi</i> - <i>cis</i> -Sesquisabineno	SO	37,835	1592	1573	3.6										4.0	
152	NI-37,845		37,845	1594			2.4										1.1
153	Hidrato de - <i>trans</i> - Sesquisabineno (IPP vs. OH)	SO	37,851	1594	1577	1.9		4.1				0.9				1.8	
154	NI-37,994		37,994	1599													
155	Viridiflorol	SO	38,032	1601	1592												
156	Globulol	SO	38,051	1601	1590												

157	NI-38,063		38,063	1602											
158	Carotol	SO	38,236	1609	1594			9.1	7.9	1.3	8.1		5.9	4.0	7.2
159	Epóxido de Farneseno	SO	38,275	1611	1624	0.2									
160	NI-38,289		38,289	1611											
161	Ledol	SO	38,309	1612	1602						0.4				
162	NI-38,389		38,389	1615				6.2	0.6			0.7		0.5	0.3
163	Epóxido de Humuleno II	SO	38,408	1616	1608	0.3	0.2			0.8	0.3		0.8		
164	NI-38,508		38,508	1620											
165	Cadin-4-en-7-ol	SO	38,532	1621	1635										
166	1,10-di-epi-Cubenol	SO	38,546	1622	1618		8.5								
167	NI-38,571		38,571	1623											
168	Helifolen-12-al C <anti-syn-syn->	SO	38,631	1625	1619							1.0			
169	NI-38,687		38,687	1627											
170	NI-38,715		38,715	1629											
171	Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol	SO	38,790	1632	1630						0.4				
172	Gymnomitrona	SO	38,841	1634	1632			0.3							
173	NI-38,851		38,851	1634						1.1					1.5
174	1-epi-Cubenol	SO	38,861	1635	1627										
175	Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol (1630)+ Epóxidode alo-aromadendreno(1639)	SO	38,882	1635											
176	1-epi-Cubenol (1628) + Muurola-4,10(14)-dien-1-β-ol (1630)	SO	38,885	1636											
177	NI-38,900		38,900	1636								0.4			0.5
178	Epóxido de Alo-Aromadendreno	SO	38,908	1637	1639						0.6				
179	NI-38,966		38,966	1639				0.2				0.9			
180	γ-Eudesmol	SO	38,974	1639	1630										
181	α-Acorenol	SO	38,986	1640	1632										
182	NI-39,001		39,001	1640					0.3					0.3	
183	NI-39,049		39,049	1642					0.8						

184	Gossonorol	SO	39,089	1644	1636								
185	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5 $\beta$ -ol*	SO	39,125	1645	1639				0.4				0.8
186	NI-39,125		39,125	1645									
187	$\beta$ -Acorenol	SO	39,194	1648	1636								
188	Cubenol	SO	39,220	1649	1645								
189	$\alpha$ -epi-Cadinol	SO	39,231	1650	1638								
190	NI-39,268		39,268	1651									
191	$\alpha$ -epi-Muurolol	SO	39,278	1652	1640							0.3	
192	epi- $\alpha$ -Muurolol (1640) + $\alpha$ -Muurolol (1644)	SO	39,289	1652									
193	NI-39,325		39,325	1654									
194	$\alpha$ -Muurolol	SO	39,333	1654	1644			0.2	0.6		0.4		
195	NI-39,415		39,415	1657									0.5
196	NI-39,450		39,450	1659									
197	NI-39,481		39,481	1660									1.2
198	$\alpha$ -Eudesmol	SO	39,554	1663	1652								
199	$\alpha$ -Cadinol	SO	39,586	1664	1652			0.6					
200	NI-39,589	SO	39,589	1664									
201	Bergamotol, Z- $\alpha$ -trans,		39,612	1665	1654	2.2		1.1	2.0				2.0
202	NI-39,631		39,631	1666									0.7
203	Intermedeol	SO	39,653	1667	1665								
204	NI-39,667		39,667	1668									
205	Ar-Turmerona	SO	39,678	1668	1668								1.6
206	NI-39,782	SO	39,782	1672									
207	Turmerona		39,798	1673	1680								4.6
208	NI-39,873		39,873	1676									
209	(E)- $\alpha$ -Bergamotenal	SO	39,891	1677	1671	4.3		2.6	6.4				2.3 4.4
210	14- Hidroxi-9-Epi-(E)-Cariofileno	SO	39,917	1678	1668					1.1			

211	NI-39,930		39,930	1678										
212	Occidenol	SO	39,996	1681	1676				1.0	1.0	1.0	0.9	0.8	
213	NI-40,041		40,041	1683										
214	1675 (Z)- $\alpha$ -Santalol + contaminante	SO	40,078	1685	1674+				0.4	0.4	0.5	2.7	0.5	
215	(Z)- $\alpha$ -Santalol	SO	40,099	1685	1674	1.2	0.7	0.8					1.5	
216	NI-40,104		40,104	1686										
217	(E)- $\alpha$ -Santalal	SO	40,127	1687	1680	3.3	2.6	5.9					4.5	
218	2,3-dihidro-Farnesol	SO	40,205	1690	1688				23.7	0.9	0.7		0.7	0.8
219	NI-40,249		40,249	1692						0.6	3.5			
220	$\alpha$ -Bisabolol	SO	40,275	1693	1685				0.5					
221	(Z)- $\alpha$ - trans-Bergamotol	SO	40,287	1693	1690	5.6	4.3	3.0				0.8	4.7	6.2
222	$\alpha$ - <i>epi</i> - Bisabolol	SO	40,292	1693	1683									
223	Cis 14- Nor muurol-5-En-4-ona		40,303	1693	1688									
224	NI-40,317		40,317	1694										
225	NI-40,383		40,383	1697								0.6	0.8	
226	NI-40,433		40,433	1699										
227	NI-40,463		40,463	1700					0.3	1.1	0.6			0.5
228	NI-40,531		40,531	1703										
229	(Z)- <i>epi</i> - $\beta$ -Santalol		40,543	1704	1702	4.5	3.7	1.7				0.6	3.7	4.3
230	Shyobunol	SO	40,554	1704	1688									
231	NI-40,575		40,575	1705						0.4	1.6			0.3
232	NI-40,650		40,650	1709					3.2		0.3			
233	Farnesal <(2E,6Z)->	SO	40,739	1713	1713				1.2		0.3	2.4		
234	NI-40,759		40,759	1708										
235	NI-40,830		40,830	1717										
236	Farnesol <(2E,6Z)->	SO	40,856	1718	1714						1.5	32.9		
237	Farnesol <(2Z,6E)->	SO	40,864	1718	1722				2.0		15.5			



238	NI-40,900		40,900	1715										
239	(Z)- $\beta$ -Santalol	SO	41,086	1723	1715	0.3		0.6					0.3	0.5
240	NI-41,148		41,148	1731					0.7					
241	NI-41,192		41,192	1733										
242	Farnesal <(2E,6E)->	SO	41,361	1740	1740				1.8	0.3			0.6	0.7
243	NI-41,732		41,732	1757									2.8	0.7
244	NI-41,767		41,767	1759										0.5
245	7,14-Anidro-Amorfa-4,9-Dieno	SO	41,807	1760	1755								0.3	
246	12-ol- $\beta$ -(Z)-Curcumeno		41,959	1765	1754			0.8						
247	(Z)-Lanceol	SO	41,961	1767	1760	1.0		1.1					0.9	0.6
248	NI-42,050		42,050	1771										
249	NI-42,175		42,175	1777									0.3	
250	Acetato de cedrila	SO	42,215	1779	1767									
251	Acetato de (Z)- $\alpha$ -Santalol	SO	42,238	1778	1777	0.5		0.4	0.8					
252	(2E,6E)-Farnesoato de Metilo	SO	42,259	1781	1783				0.4			4.6	1.0	23.1
253	NI-42,317		42,317	1783							1.0			0.5
254	NI-42,623		42,623	1797										0.4
255	NI-42,718		42,718	1801					1.7					
256	NI-42,785		42,785	1804										
257	NI-42,883		42,883	1809										
258	Calamenene 5-hydroxi-cis	SO	42,898	1810	1713									
259	Acetato de Khusinol	SO	42,907	1810	1823						0.4			0.6
260	NI-42,985		42,985	1814										0.5
261	(Z)- $\beta$ -Acetato de Santalol	SO	43,116	1820	1818									
262	Iso-Longifolol Acetato	SO	43,207	1824	1819									
263	NI-43,291		43,291	1828										
264	(2Z,6E)-Acetato de Farnesilo	SO	43,391	1833	1821				0.5				0.5	3.8

265	NI-43,572		43,572	1842																			
266	NI-43,777		43,777	1851																			
267	NI-43,812		43,812	1853						0.3	0.3		0.3										
268	NI-44,016		44,016	1863							0.4												
269	NI-44,212		44,212	1872																	0.4		
270	(5E,9Z)-Farnesilacetona	SO	44,602	1891	1886					0.5													
271	NI-44,608		44,608	1891																		6.3	
<hr/>																							
Hidrocarbonetos de monoterpenos						16.7	17.8	17.2	14.9	10.3	2.3	17.7	1.4	8.4	3.0	6.7	13.0						
Monoterpenos oxigenados						4.0	3.3	2.4	5.6	0.8	0.0	1.8	0.0	1.8	0.0	1.7	0.3						
Total monoterpenos						20.7	21.1	19.6	20.5	11.0	2.3	19.5	1.4	10.2	3.0	8.4	13.4						
Hidrocarbonetos de sesquiterpenos						41.1	43.9	43.1	21.1	65.6	67.0	69.1	48.9	17.3	55.7	47.9	61.9						
Sesquiterpenos oxigenados						33.5	29.9	32.6	44.9	14.6	17.4	10.8	37.8	66.2	32.0	38.2	12.9						
Total de sesquiterpenos						74.6	73.7	75.6	66.0	80.2	84.4	79.9	86.7	83.5	87.7	86.0	74.8						
Fenilpropanos (derivados)						0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0						
Outros						0.2	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0						
Não identificados						4.2	3.5	4.8	13.3	8.8	13.0	0.6	11.9	6.3	8.9	5.5	11.8						
<b>TOTAL</b>						<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>						

A composição química foi analisada por CG-EM e organizada na tabela por ordem de eluição (OE) na coluna cromatográfica. A concentração (%) foi calculada com base na área total do pico do cromatograma de íons totais (TIC). N° – número de substâncias nos óleos essenciais dos indivíduos G36 a G48. TR – Tempo de retenção para cada substância. Cl – diferentes classes de substâncias. IRc – índice de retenção calculado. IRT – índice de retenção tabelado. HM–Hidrocarbonetos de monoterpenos. MO–Monoterpenos oxigenados. HS–Hidrocarbonetos de sesquiterpenos. SO–Sesquiterpenos oxigenados. F –Fenilpropanos. NI–Não identificado. G–Indivíduo.