

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROGER RAUPP CIPRIANO

CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO, ATIVIDADE BIOLÓGICA E VARIABILIDADE  
QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eugenia uniflora* L.

CURITIBA

2019

ROGER RAUPP CIPRIANO

CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO, ATIVIDADE BIOLÓGICA E VARIABILIDADE  
QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eugenia uniflora* L.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Cícero Deschamps

CURITIBA

2019

Cipriano, Roger Raupp  
C577c Capacidade de enraizamento, atividade biológica e variabilidade química de óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. / Roger Raupp Cipriano. - Curitiba, 2019.  
136 p.: il.,

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - (Produção Vegetal).  
Orientador: Cícero Deschamps

1. Pitangueira - árvore. 2. Propagação vegetativa. 3. Essências e óleos essenciais. 4. Sazonalidade. I. Deschamps, Cícero (Orientador). II. Título. III. Universidade federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA  
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **ROGER RAUPP CIPRIANO** intitulada: **CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO, ATIVIDADE BIOLÓGICA E VARIABILIDADE QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eugenia uniflora* L.**, sob orientação do Prof. Dr. CICERO DESCHAMPS, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Novembro de 2019.

CICERO DESCHAMPS  
Presidente da Banca Examinadora

BEATRIZ HELENA LAMEIRO DE NORONHA SALES MAIA  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

LUIZ ANTONIO BIASI  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

ERCI MARCÔS DEL QUIQUI  
Avaliador Externo (null)

KATIA CHRISTINA ZUFFELLATO-RIBAS  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Aos meus pais:  
*Antônio Carlos Cipriano e*  
*Arlete Raupp Cipriano*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço principalmente a meus pais, Antonio Carlos Cipriano e Arlete Raupp Cipriano. Pais que sempre me incentivaram, me ajudaram e me motivaram até chegar a este momento.

Aos meus irmãos Denner Raupp Cipriano e Marcelo Raupp Cipriano pelo apoio durante os momentos que mais precisei.

Aos meus sobrinhos Bruno, Ully, Yago e Henrique a quem dedico todas as minhas realizações.

Agradecimento à Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Produção Vegetal (PPGAPV) que proporcionaram me tornar o profissional que sou hoje.

Ao Professor Dr. Cícero Deschamps pela orientação, amizade e principalmente por me acolher no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal. Atitude que me trouxe novos desafios na minha função de Técnico de Laboratório.

Aos colegas do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Maíra, Jéssica, Renata, Wanderlei, Aurea, Michele, Lury, Jeidi, Felipe, Erik e Marília, pela convivência e ajuda.

Ao Sr. Lorival, técnico de campo da Área Experimental de Plantas Aromáticas e Medicinais, pelo apoio nas atividades ocorridas na Fazenda Canguiri.

A secretária do PPGAPV, Lucimara Antunes, pela paciência, presteza, dedicação e competência que sempre auxiliou todos os docentes e discentes do PPGAPV.

Não poderia de deixar de agradecer ao apoio do Laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química (Profa. Dra. Beatriz H. L. N. S Maia e Inaiara Casapula), do Grupo de Estudos e Pesquisa em Estaquia (Profa. Dra. Katia Christina Zuffellato Ribas, Leandro Latoch, Leandro Marcolino Vieira e Renata de Almeida Maggioni), ao Laboratório de Anatomia e Biomecânica Vegetal (Prof. Dr. Bruno Francisco Sant'anna dos Santos) e a Dra. Marta Christina Teixeira Duarte (CPQBA/ UNICAMP).

Também agradeço a todos os servidores do Departamento de Fitossanitarismo e Fitossanidade, professores e técnicos, pelas dicas e apoio.

Enfim, agradeço a todas as pessoas com quem tive o prazer de conviver e que me auxiliaram muito na minha trajetória profissional, acadêmica e pessoal.

## RESUMO

*Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitangueira, é uma espécie nativa que apresenta distribuição em todo território brasileiro e de grande potencial econômico e ecológico. Seus frutos se caracterizam pelo sabor e aroma típico, sendo a polpa utilizada na produção de sucos, sorvetes e licores. Embora seja também utilizada intensivamente na medicina popular na forma de chá, recentemente passou a ser matéria-prima importante para a indústria devido à produção de óleo essencial com propriedades antioxidantes. A pitangueira se adapta a diferentes condições ambientais, pois apresenta grande variabilidade genética, portanto a avaliação de potenciais genótipos com alta produção de biomassa foliar e óleo essencial com padrões que atendam às exigências da indústria se faz necessária como estratégia inicial no desenvolvimento tecnológico para a produção da espécie. Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a variabilidade no teor e na composição de óleos essenciais de diferentes genótipos de pitangueiras cultivados na Estação Experimental do Canguiri da Universidade Federal do Paraná e avaliar diferentes técnicas na propagação por estaquia da espécie. A extração do óleo essencial das folhas foi realizada por hidrodestilação e a composição química analisada por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC/MS). As amostras de óleo essencial foram utilizadas em bioensaios para avaliar o potencial antioxidante e antibacteriano. Também foram desenvolvidos protocolos de propagação vegetativa a partir da avaliação de diferentes substratos (Tropstrato®, areia e vermiculita), concentrações do regulador vegetal ácido indolbutírico (IBA), sazonalidade na coleta dos propágulos e métodos de rejuvenescimento (poda e miniestaquia). Na avaliação na composição dos óleos essenciais dos genótipos estudados foi possível observar grande variabilidade química, sendo encontrados seis perfis cromatográficos distintos. Os resultados dos testes biológicos confirmaram a dependência na intensidade do efeito antioxidante dos óleos essenciais à sua composição. Quando avaliados quanto à sazonalidade, foram verificadas apenas alterações quantitativas de alguns compostos, sem mudanças na composição do óleo essencial estudado. As amostras de óleo essencial coletadas no verão e primavera foram as com maior atividade antioxidante, quando comparadas as amostras coletadas no outono e inverno. O resultado observado foi decorrente, provavelmente, de diferenças na concentração do composto germacrona. A atividade antibacteriana foi considerada de moderada a fraca, sendo os melhores resultados obtidos sobre *Escherichia coli*, sem diferença entre as estações. Nas avaliações de estratégias de propagação vegetativa os melhores resultados foram obtidos quando a espécie foi submetida a métodos de rejuvenescimento, principalmente a miniestaquia, com 48,33% de enraizamento, no substrato comercial Tropstrato® e com material coletado no verão. Maiores porcentagens de enraizamento foram obtidas sem a aplicação de IBA. Nas estacas provenientes de matrizes que não sofreram nenhum método de rejuvenescimento não ocorreu processo rizogênico, independente da estação de coleta.

Palavras-chave: Pitangueira. Flora aromática. Sazonalidade. Propagação vegetativa.

## ABSTRACT

*Eugenia uniflora*, popularly known as “surinan cherry tree”, is a native species with distribution in Brazil and with economic and ecological importance. Its fruits are characterized by the typical flavor and aroma, being the pulp used in the production of juices, ice cream and liqueurs. Although it is also used extensively in folk medicine as a tea, recently it has become an important raw material for the industry due the antioxidant properties of its essential oil.. Surinan cherry tree adapts to different environmental conditions because of the great genetic variability, therefore the evaluation of potential genotypes with high leaf biomass and essential oil production to meet the industry requirements is necessary. Therefore, the main objective of this work was to evaluate the essential oil yield and composition and antioxidant and antibacterial activities of different genotypes of surinan cherry tree cultivated at the Canguiri Experimental Station of Federal University of Parana and to develop a vegetative propagation protocol for the selected plant materials. . The isolation of the essential oil samples from leaves was performed by hydrodistillation and the chemical composition analyzed by gas chromatography coupled to the mass spectrometer (GC / MS). The obtained samples were then used in bioassays to evaluate antioxidant and antibacterial activities. For te vegetative propagation experiments, different substrates (Tropstrato®, sand and vermiculite), indolbutyric acid (IBA) concentrations were evaluated for the rooting of plant material collected in different seasons and those obtained after rejuvenation methods (pruning and minicutting). it was observed great chemical variability in the essential oils composition of the studied genotypes, being observed six distinct chromatographic profiles. The results of the biological tests confirmed the dependence on the antioxidant activity according to the essential oil composition. for The season in which the plant material was collected showed effect in the percentage of the essential oil constituents and the highest antioxidant activity was observed in samples collected during the summer and spring insamples from . This result was probably due to differences in the concentration of the germacrone compound in the essential oil. Antibacterial activity was considered moderate to poor, with the best results obtained on *Escherichia coli*, with no difference between seasons. The best results in the vegetative propagation by stem cuttings were found with the rejuvenation methods using the commercial substrate Tropstrato® and with plant material collected in the summer. Higher rooting percentages were obtained without the application of IBA. In stem cuttings from plant material that did not were submitted to any rejuvenation method, the root formation did not occur, regardless of the collection season.

Keywords: Surinan cherry tree. Aromatic flora. Seasonality. Vegetative propagation.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 -	ROTA DE BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS TERPÊNICOS. A: ROTA DO ÁCIDO MEVALÔNICO E DO FOSFATO DE METILETRITOL; B: PRECURSORES DOS ISOPRENOS (IPP E DMAPP); C: MONOTERPENOS; D: SESQUITERPENOS.....	21
FIGURA 2.2 -	ROTA DE BIOSÍNTESE DE ARILPROPANOIDES. A: ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO; B: ARILPROPANOIDES COM OCORRÊNCIA EM ÓLEOS ESSENCIAIS.....	22
FIGURA 3.1 -	TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE 36 GENÓTIPOS DE FOLHAS DE <i>E. uniflora</i> . COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) = 21,76%. COLUNAS COM AS MESMAS LETRAS NÃO DIFEREM ESTATÍSTICAMENTE PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT A 5% DE PROBABILIDADE.....	52
FIGURA 3.2 -	ANÁLISE DE CLUSTERS BASEADA NOS PRINCIPAIS COMPOSTOS DE ÓLEO ESSENCIAL DE 36 GENÓTIPOS DE <i>E. uniflora</i> , OBITADA PELO MÉTODO UPGMA. CORRELAÇÃO COFENÉTICA = 95,88%.....	53
FIGURA 3.3 -	PRINCIPAIS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DOS SEIS GRUPOS DE GENÓTIPOS DE <i>E. uniflora</i> . OS VALORES SÃO EXPRESSOS COMO MÉDIA ± DP (DESVIO PADRÃO).....	54
FIGURA 3.4 -	ESTRUTURA QUÍMICA DE 6-ETENIL-6-METIL-3,5-DI(PROP-1-EN-2-IL)CICLOEXEN-2-1-ONA, SESQUITERPENO OXIGENADO PELA PRIMEIRA VEZ DESCRITO, IDENTIFICADO EM ÓLEO ESSENCIAL DE <i>E. uniflora</i> ...	57
FIGURA 4.1 -	TEOR MÉDIO DE ÓLEO ESSENCIAL NAS QUATRO ESTAÇÕES (PRIMAVERA, VERÃO, OUTONO E INVERNO). COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) = 10,19%. MESMAS LETRAS NÃO DIFEREM ESTATÍSTICAMENTE PELO TESTE DE TUKEY A 5% DE PROBABILIDADE.....	76
FIGURA 4.2 -	VARIAÇÃO NA QUANTIDADE DE SESQUITERPENOS NOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>E. uniflora</i> NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DE COLETA. COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) = 0,28%. LETRAS IGUAIS NÃO DIFEREM ESTATÍSTICAMENTE PELO TESTE DE TUKEY A 5% DE PROBABILIDADE.....	77
FIGURA 4.3 -	ACUMULADO DE PRECIPITAÇÃO (mm) E MÉDIA DAS TEMPERATURAS MÁXIMAS, MÉDIAS E MÍNIMAS (°C) AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO NO LOCAL DE COLETA.....	81
FIGURA 4.4 -	ANÁLISE DE CLUSTERS DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES DE ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE <i>E. uniflora</i> COLETADAS NAS QUATRO ESTAÇÕES ENTRE 2017 E 2018. CORRELAÇÃO COFENÉTICA (CC) = 74,50%.....	82
FIGURA 5.1 -	MÉDIAS DAS TEMPERATURAS MÁXIMAS (°C) E ACÚMULO DE PRECIPITAÇÃO (mm) DURANTE O PERÍODO DE COLETAS DO MATERIAL SUBMETIDO AO EXPERIMENTO DE AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SAZONALIDADE NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR ESTAQUIA. (*) MESES DE COLETA.....	101

FIGURA 5.2 - ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS PROVENIENTES DE BROTAÇÕES EPICÓRMICAS DE PODA DRÁSTICA (30 cm) DE *E. uniflora* (SECÇÕES TRANSVERSAIS). A: CRESCIMENTO SECUNDÁRIO; B: CÂMBIO VASCULAR; C: ESTACA ENRAIZADA; D e E: FLOEMA PRIMÁRIO LIGNIFICADO. Co = CÔRTEX; F1° = FLOEMA PRIMÁRIO; F2° = FLOEMA SECUNDÁRIO; X2° = XILEMA SECUNDÁRIO; X1° = XILEMA PRIMÁRIO; Me = MEDULA; SETA PRETA = CÂMBIO VASCULAR; ESTRELA = ELEMENTO DE VASO; SETA BRANCA = RAIOS DO FLOEMA; RA = RAÍZ; CABEÇA DE SETA BRANCA = ANEL DE FIBRAS PERICÍCLICAS..... 106

FIGURA 5.3 - MINIESTACAS CAULINARES DE *E. uniflora* (SECÇÕES TRANSVERSAIS). A: ESTACA COM CALO E RAÍZ, EM DESTAQUE DETALHES DO CALO E DA RAÍZ; B: LIGAÇÃO ENTRE A RAÍZ E CILINDRO VASCULAR; C: ESPESSAMENTO DA PAREDE CELULAR DE ELEMENTOS DE CONDUÇÃO DO XILEMA DA RAÍZ. (\*) = ESPAÇO INTERCELULAR; CABEÇA DE SETA BRANCA = ANEL DE FIBRAS PERICÍCLICAS; Ca = CALO; Ra = RAÍZ; SETA VERMELHA = ELEMENTOS DE CONDUÇÃO DO XILEMA DA RAÍZ. 107

FIGURA 5.4 - ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS PROVENIENTES DE BROTAÇÕES ANUAIS DE *E. uniflora* (SECÇÕES TRANSVERSAIS) A: FELOGÊNIO SE DIFERENCIANDO NO CÔRTEX; B: FLOEMA PRIMÁRIO LIGNIFICADO INDICANDO UM ESTÁDIO MAIS AVANÇADO DO CRESCIMENTO SECUNDÁRIO. A1 E A2 = XILEMA SECUNDÁRIO, ANEIS DE CRESCIMENTO; SETA BRANCA = RAIOS XILEMÁTICOS; SETA PRETA = CÂMBIO VASCULAR; CABEÇA DE SETA VERMELHA = FELOGÊNIO; F1° = FLOEMA PRIMÁRIO; F2° = FLOEMA SECUNDÁRIO..... 108

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - AS DEZ FAMÍLIAS MAIS DIVERSAS DE ANGIOPERMAS OCORRENTES NO BRASIL, NÚMERO TOTAL DE GÊNEROS, NÚMERO TOTAL DE ESPÉCIES E O PORCENTUAL DE ESPÉCIES ENDÊMICAS.....	30
TABELA 2.2 - VARIABILIDADE NA COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Eugenia uniflora</i> .....	33
TABELA 3.1 - TEORES DE ÓLEO ESSENCIAL, COMPOSTOS IDENTIFICADOS, MONOTERPENOS E MONOTERPENOS OXIGENADOS, SESQUITERPENOS E SESQUITERPENOS OXIGENADOS, OBSERVADOS NOS GENÓTIPOS DE <i>E. uniflora</i> ESTUDADOS. MÉDIAS (± DP).....	52
TABELA 3.2 - VALORES MÉDIOS (± DP) DOS COMPOSTOS (%) UTILIZADOS COMO MARCADORES NA ANÁLISE DE CLUSTERS.....	55
TABELA 3.3 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE FOLHAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE <i>E. uniflora</i> PELO MÉTODO DPPH.....	59
TABELA 3.4 - MATERIAL SUPLEMENTAR: COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE GENÓTIPOS DE <i>Eugenia uniflora</i> .....	65
TABELA 4.1 - COMPOSTOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS NOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>E. uniflora</i> , EM DIFERENTES ÉPOCAS DE COLETA.....	78
TABELA 4.2 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>E. uniflora</i> , COLETADOS EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE DPPH.....	82
TABELA 4.3 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>E. uniflora</i> PELO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO. OS RESULTADOS SÃO APRESENTADOS COMO CIM EM $\mu\text{g mL}^{-1}$ .....	83
TABELA 5.1 - ESTACAS SEMILENHOSAS ENRAIZADAS, NÚMERO E COMPRIMENTO DE RAÍZES POR ESTACA, ESTACAS VIVAS, MORTAS, COM FOLHAS, COM BROTO E COM CALOS DE <i>E. uniflora</i> EM FUNÇÃO DE DIFERENTES SUBSTRATOS E CONCENTRAÇÕES DE IBA (ABRIL/ 2016).....	98
TABELA 5.2 - ESTACAS SEMILENHOSAS COM CALOS, COM BROTAÇÕES, COM FOLHAS, VIVAS E MORTAS DE <i>E. uniflora</i> , EM FUNÇÃO DE DIFERENTES ÉPOCAS DE COLETA E CONCENTRAÇÕES DE IBA.....	100
TABELA 5.3 - ESTACAS HERBÁCEAS ENRAIZADAS (EE), NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES POR ESTACA (CR), ESTACAS VIVAS (EV), ESTACAS COM FOLHAS (EF) E ESTACAS MORTAS (EM) DE <i>E. uniflora</i> , PROVENIENTES DE PODA DRÍSTICA A 30cm DO SOLO, EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA (JANEIRO/ 2019).....	102

TABELA 5.4 - VALORES DE ENRAIZAMENTO, NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA, COMPRIMENTO DE RAÍZES POR ESTACA, PROPÁGULOS VIVOS, COM FOLHAS, COM CALOS E MORTOS EM FUNÇÃO DA ÉPOCA DE COLETA E A APLICAÇÃO DE IBA EM MINIESTACAS DE <i>E. uniflora</i> .....	103
TABELA 5.5 - COMPARAÇÃO DAS PORCENTAGENS DE ENRAIZAMENTO OBSERVADAS NOS EXPERIMENTOS DE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR ESTAQUIA EM <i>E. uniflora</i> .....	104

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>20</b>
2.1	ÓLEOS ESSENCIAIS .....	20
2.1.1	Composição e Rotas Metabólicas .....	20
2.1.2	Local de armazenamento, métodos de extração e variabilidade.....	23
2.1.3	Usos e importância econômica .....	24
2.2	PROPAGAÇÃO.....	26
2.2.1	Propagação vegetativa.....	26
2.2.2	Estaquia e miniestaquia.....	27
2.2.3	Fatores que afetam a emissão de raízes adventícias.....	28
2.3	<i>Eugenia uniflora</i> .....	29
2.3.1	Caracterização botânica da espécie.....	29
2.3.2	Óleos essenciais de <i>E. uniflora</i> .....	31
2.3.3	Propagação de <i>E. uniflora</i> .....	34
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>34</b>
<b>3</b>	<b>VARIABILIDADE QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE GENÓTIPOS DE <i>Eugenia uniflora</i> L. E SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE</b> .....	<b>46</b>
	RESUMO.....	46
	ABSTRACT.....	47
3.1	INTRODUÇÃO.....	48
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3.2.1	Material vegetal.....	49
3.2.2	Extração e análise dos óleos essenciais.....	50
3.2.3	Atividade antioxidante.....	50
3.2.4	Análises estatísticas.....	51
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.3.1	Teor e composição de óleo essencial.....	51
3.3.2	Atividade Antioxidante.....	58
3.4	CONCLUSÕES.....	59
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>60</b>
<b>4</b>	<b>TEOR, COMPOSIÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Eugenia uniflora</i> L. EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE.</b>	<b>70</b>

RESUMO.....	70
ABSTRACT.....	71
4.1 INTRODUÇÃO.....	72
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
4.2.1 Material vegetal.....	73
4.2.2 Extração e análise de óleo essencial.....	73
4.2.3 Atividade antioxidante.....	74
4.2.4 Atividade antibacteriana.....	75
4.2.5 Análises estatísticas.....	75
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4.3.1 Teor e composição do óleo essencial.....	76
4.3.2 Atividade antioxidante.....	82
4.3.3 Atividade antibacteriana.....	83
4.4 CONCLUSÕES.....	84
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>85</b>
<b>5 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE <i>Eugenia uniflora</i> POR ESTAQUIA: SUBSTRATOS, EPÓCA DE COLETA, IBA E MÉTODOS DE REJUVENESCIMENTO.....</b>	<b>90</b>
RESUMO.....	90
ABSTRACT.....	91
5.1 INTRODUÇÃO.....	92
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	93
5.2.1 <i>Experimento 1: Avaliação do tipo de substrato no enraizamento de estacas semilenhosas de <i>Eugenia uniflora</i>.....</i>	95
5.2.2 <i>Experimento 2: Avaliação do efeito da sazonalidade no enraizamento de estacas semilenhosas de <i>E. uniflora</i>.....</i>	95
5.2.3 <i>Experimento 3: Avaliação do efeito de poda drástica no enraizamento de estacas herbáceas de <i>E. uniflora</i>.....</i>	95
5.2.4 <i>Experimento 4: Avaliação do enraizamento de miniestacas de <i>E. uniflora</i> em diferentes épocas de coleta.....</i>	96
5.2.5 Análises anatômicas das estacas pós-experimento.....	96
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	97
5.4 CONCLUSÕES.....	110
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>110</b>

<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>115</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>116</b>
<b>REFERÊNCIAS GERAIS.....</b>	<b>117</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Os óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário das plantas, constituídos de uma mistura complexa de compostos voláteis, lipofílicos, de baixo peso molecular, odoríferos e líquidos (ZUZARTE; SALGUEIRO, 2015). Apresentam importante papel ecológico, pelas funções de interação planta-planta (alelopatia), atração de polinizadores, exercem ainda papel de sinalizadores e inibidores de herbivoria e ação contra a infecção de fungos, bactérias e vírus (ALMEIDA et al., 2010; JUNKER; THOLL, 2013; PINTO-ZEVALLOS et al., 2013). Devido a estas funções e características naturais, têm sido usados intensamente como conservantes de alimentos, além de conferirem aroma e sabores especiais a produtos alimentícios, de higiene, perfumaria e limpeza. Na indústria farmacêutica são fontes de princípios ativos (LUBBE; VERPOORTE, 2011; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; SACHIN et al., 2016).

Plantas que apresentam tais produtos do metabolismo secundário são conhecidas como plantas aromáticas, contemplando espécies das famílias botânicas Anarcadiaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Salicaceae, Scrophulariaceae, Verbenaceae e Winteraceae.

O Brasil apresenta uma grande variedade de espécies aromáticas que podem ser exploradas comercialmente, entre elas *Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitangueira. A espécie é uma Myrtaceae Neotropical, com ocorrência em todo território nacional, além de ser encontrada na Argentina, Uruguai e Paraguai, apresentando alto potencial de uso nas indústrias de alimentos, de cosméticos e de fármacos. Contém uma série de compostos do metabolismo secundário que são potencialmente antioxidantes, antihelmínticos, antibacterianos, antifúngicos e antivirais (MOURA et al., 2018). São plantas utilizadas na medicina popular para controle de diabetes, problemas gastrointestinais e outras desordens. Apresentam uma ampla variabilidade de características morfológicas e físico-químicas, resultado de sua principal estratégia de reprodução, a alogamia.

Devido esta variabilidade, para a seleção de genótipos promissores que apresentem características de interesse comercial e médico, se faz a necessidade de avaliação e caracterização de seus perfis fitoquímicos. No caso de plantas aromáticas, como *Eugenia uniflora*, é de suma importância determinar a composição de seu óleo

essencial. O efeito biológico dos óleos essenciais e a intensidade destes efeitos estão associados com sua composição.

A composição dos óleos essenciais depende além das características genéticas da planta, mas também de fatores ambientais. Dentre eles pode-se relacionar a edafologia, altitude, quantidade pluviométrica, temperatura e radiação solar (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Alguns destes fatores apresentam flutuações entre as diferentes estações do ano, que acarretam na variação no teor e na composição dos óleos essenciais.

Poucas espécies aromáticas nativas apresentam cultivos consolidados, carecendo de agrônoma para a produção de óleos essenciais. Há poucos cultivos comerciais de *Eugenia uniflora* e grande parte da matéria-prima atualmente utilizada pelas indústrias vem sendo obtida por extrativismo. Um dos gargalos é a produção de mudas com quantidade e qualidade desejáveis. A produção de mudas por sementes apresenta desvantagem, principalmente por promover grande variabilidade, devido a troca de material genético entre as matrizes, que inviabiliza o estabelecimento de plantações para fins comerciais (DIAS et al., 2012). Uma das formas de promover maior uniformidade de certas características em cultivos comerciais de uma espécie é a propagação vegetativa. O desenvolvimento de protocolos de multiplicação vegetativa permite a fixação de características favoráveis, como a estabilidade na composição fitoquímica em plantas medicinais e aromáticas (FRANZON; CARPENEDO; SILVA, 2010).

Os métodos de propagação vegetativa por estaquia e miniestaquia permitem a obtenção de mudas em pequeno período de tempo. A formação de sistema radicial em estacas ou miniestacas depende de inúmeros fatores, como a idade da planta matriz, estado nutritivo do material vegetal, concentração de hormônios vegetais, presença ou ausência de barreiras anatômicas e de cofatores, tipo do substrato, temperatura, luz, umidade e utilização de reguladores vegetais (FELZENER et al., 2007; PEREIRA; PERES, 2016).

Muitas espécies apresentam dificuldade de enraizamento, mesmo sob condições favoráveis para a formação de raízes. A idade ontogenética da planta matriz pode afetar consideravelmente a porcentagem de enraizamento de propágulos provenientes destes materiais. Uma alternativa para se obter um maior percentual de mudas é submeter as matrizes a técnicas de rejuvenescimento. Estes métodos permitem alterações tanto morfológicas e anatômicas quanto bioquímicas e

fisiológicas, favorecendo a formação de raízes em propágulos vegetativos (WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014).

Neste contexto, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a variabilidade química dos óleos essenciais de genótipos de *Eugenia uniflora* quanto ao teor e a composição. Verificar a influencia da composição dos óleos essenciais em suas atividades biológicas e avaliar técnica de propagação vegetativa da espécie.

Estes objetivos foram divididos em três capítulos. O capítulo I visou avaliar o teor e a composição do óleo essencial de 36 genótipos de *Eugenia uniflora* e seu potencial antioxidante. No capítulo II foi selecionado um genótipo que apresentou maior teor de óleo essencial e maior atividade antioxidante, sendo o objetivo deste capítulo verificar o teor, a composição e as atividades antioxidante e antibacteriana em função das mudanças sazonais. O último capítulo teve o intuito de avaliar a influencia do tipo de substrato, sazonalidade, diferentes concentrações de ácido indolbutírico e métodos de rejuvenescimento no enraizamento de estacas de *Eugenia uniflora*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

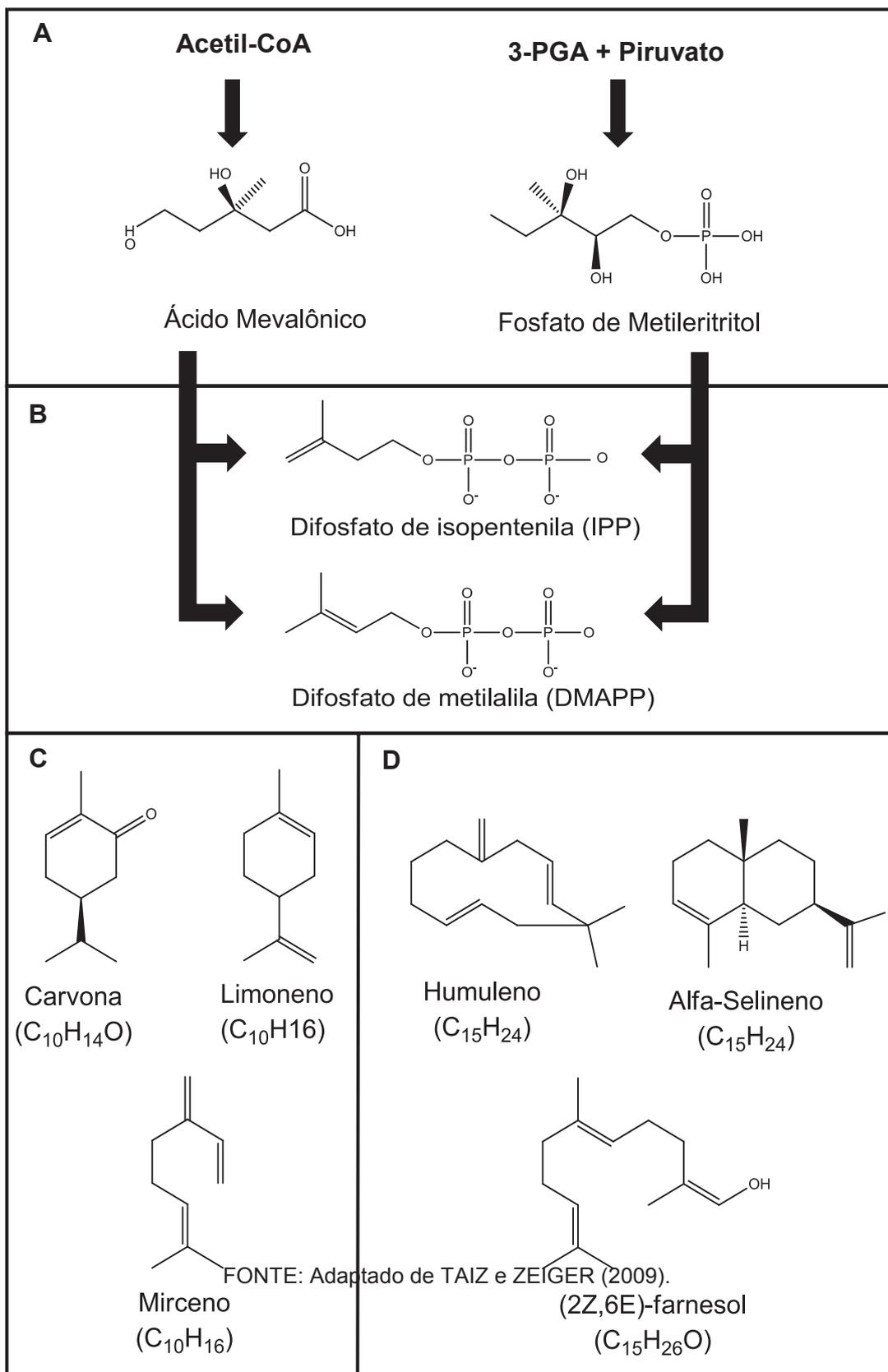
### 2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

#### 2.1.1 Composição e rotas metabólicas

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis, lipofílicos, de baixo peso molecular, odoríferos e líquidos, solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água (ZUZARTE; SALGUEIRO, 2015). São constituídos principalmente de terpenos e arilpropanoides. Estas duas classes de substâncias são produtos do metabolismo secundário, sintetizados por rotas metabólicas distintas: Rota do Ácido Mevalônico, Rota do Fosfato de Metileritritol e Rota do Ácido Chiquímico (TAIZ; ZEIGER, 2009).

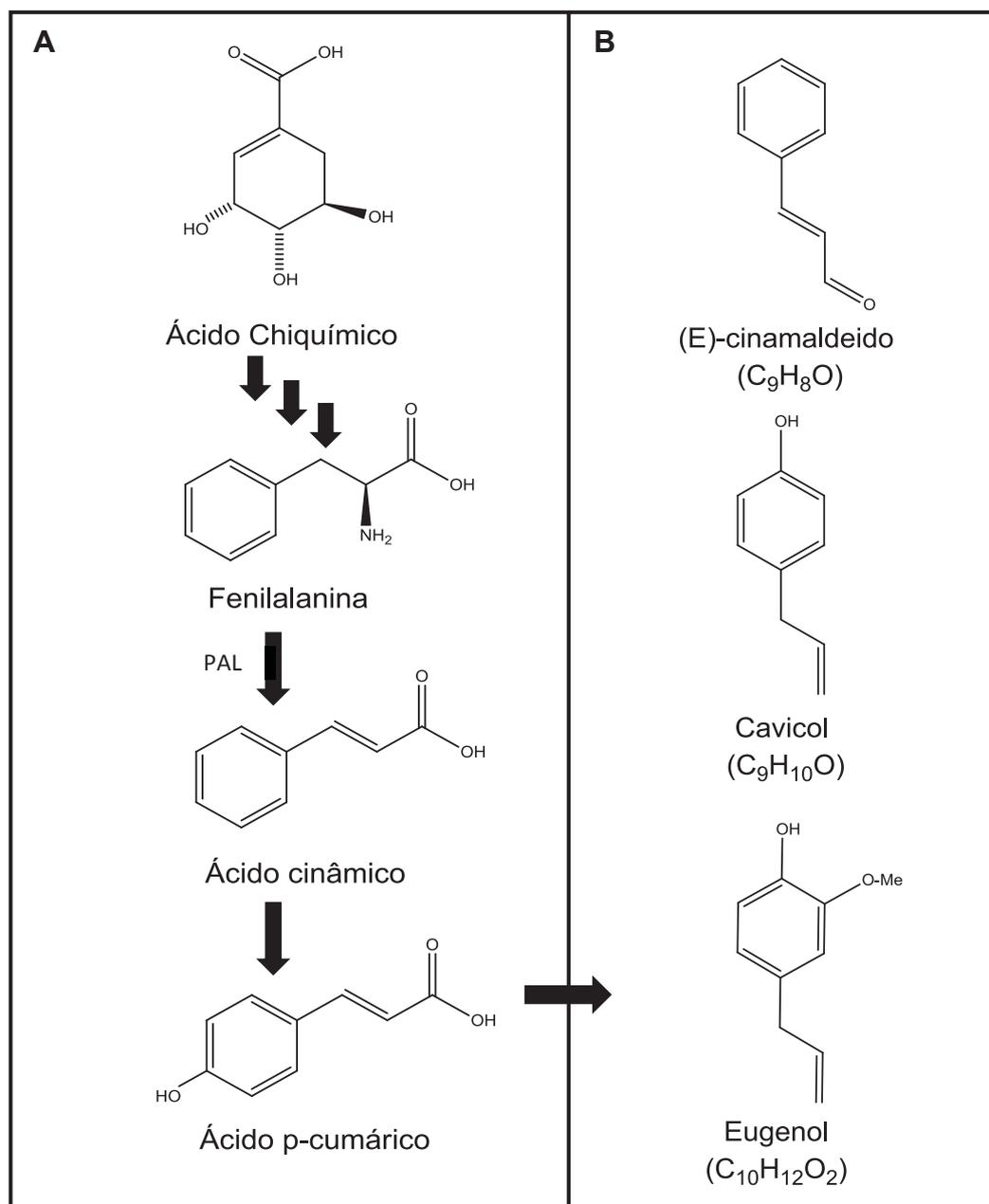
Na rota do Ácido Mevalônico e da rota do Fosfato de Metileritritol são biossintetizados os compostos terpênicos (FIGURA 2.1). Na biossíntese de terpenos, as duas vias produzem o difosfato de isopentenila (IPP) e seu isômero difosfato de dimetilalila (DMAPP), ambos constituídos por cinco átomos de carbono (FIGURA 2.1B), precursores dos terpenos. A união de unidades de isoprenos e posteriores reações, de ciclização e de oxidação, determinam a grande diversidade desta classe de compostos, considerada como uma das mais abundantes na natureza, com aproximadamente 30.000 compostos conhecidos (CARSON; HAMMER, 2011; TUREK; STINTZING, 2013; DHANDAPANI et al., 2017). Portanto, os terpenos são considerados polímeros de isopreno unidos da cabeça a cauda, na maioria das vezes. Porém também podem apresentar uniões cauda-cauda e cabeça-cabeça. Os terpenos são classificados pelo seu número de unidades de isoprenos: hemiterpenos (1), monoterpenos (2), sesquiterpenos (3), diterpenos (4), triterpenos (6) e tetraterpenos (8). Sendo os monoterpenos e os sesquiterpenos mais comumente encontrados nos óleos essenciais (FIGURA 2.1C).

FIGURA 2.1 - ROTA DE BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS TERPÊNICOS. A: ROTA DO ÁCIDO MEVALÔNICO E DO FOSFATO DE METILETRITOL; B: PRECURSORES DOS ISOPRENOS (IPP E DMAPP); C: MONOTERPENOS; D: SESQUITERPENOS.



FONTE: Adaptado de TAIZ e ZEIGER (2009).

FIGURA 2.1 - ROTA DE BIOSÍNTESE DE ARILPROPANOIDES. A: ROTA DO ÁCIDO CHIQUÍMICO; B: ARILPROPANOIDES COM OCORRÊNCIA EM ÓLEOS ESSENCIAIS.



FONTE: Adaptado de TAIZ e ZEIGER (2009).

Os arilpropanoídeos são biossintetizados pela rota metabólica do Ácido Chiquímico (FIGURA 2.2A). Estes compostos são caracterizados pela presença de um anel aromático e uma cadeia lateral de três átomos de carbono (FIGURA 2.2B). Os precursores na sua biossíntese são aminoácidos aromáticos, derivados do chiquimato, principalmente a fenilalanina (VOGHT, 2010; CHEYNIER et al., 2013). A síntese de arilpropanoídeos envolve várias reações enzimáticas, porém os mecanismos regulatórios envolvidos são relativamente desconhecidos quando

comparados a síntese de compostos terpênicos (DHANDAPANI et al., 2017). A principal enzima que participa da via do ácido chiquímico é a fenilalanina amônia-liase (PAL), ela é responsável pela desaminação da fenilalanina, convertendo-a em ácido cinâmico (MANDOULAKANI; EYVAZPOUR; GHADIMZADEH, 2017).

### 2.1.2 Local de armazenagem, métodos de extração e variabilidade

Os óleos essenciais são encontrados tanto em partes vegetativas (folhas, caules e raízes) quanto em partes reprodutivas (flores, frutos e sementes), armazenados em tricomas glandulares, papilas epidérmicas, canais oleíferos, bolsas secretoras e células do parênquima (MAFFEI, 2010). A extração pode ser realizada por diversos métodos, utilização de solventes orgânicos, enfloração e fluido supercrítico. Porém, os mais utilizados são a hidrodestilação, arraste a vapor e prensagem (BIASI; DESCHAMPS, 2009). O método de extração depende do tipo de estrutura de armazenamento e quanto da qualidade do óleo essencial pretenda-se manter, pois métodos que utilizam altas temperaturas, por exemplo, podem afetar a integridade de seus constituintes (ASBAHANI et al., 2015).

Segundo Rahimmalek e Goli (2013), dependendo das estruturas de armazenamento, processos de pré-extração devem ser realizados, como a secagem do material vegetal, promovendo a ruptura das paredes de células que circundam as cavidades de armazenamento, que se encontram no interior dos tecidos vegetais, permitindo o extravasamento do seu conteúdo e facilitando sua extração.

O teor e a composição dos óleos essenciais, segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), são influenciadas principalmente por fatores bióticos (genética e interações biológicas) e por fatores abióticos (temperatura, pluviosidade, intensidade luminosa, altitude, tipo e qualidade do solo).

Devido a diferença na expressão gênica, a composição dos óleos essenciais pode ser variável em diferentes partes de um mesmo indivíduo (folhas, frutos, caule e raízes), idade e estágio de desenvolvimento distintos destes órgãos (FIGUEIREDO et al., 2008; SANTOS; BRAZ-FILHO; CASTRO, 2015). Além disso, a variabilidade genética decorrente do modo de reprodução, principalmente alogamia, pode também promover diferenciação na composição dos óleos essenciais de uma mesma espécie (FACANALI et al., 2009).

Os óleos essenciais, assim como grande parte dos metabólitos secundários, possuem papel ecológico importante para as plantas como a interação com polinizadores e outras plantas (alelopatia), sinalizadores e inibidores de herbivoria e ação contra a infecção de fungos, bactérias e vírus. Plantas submetidas a estas condições podem apresentar alterações no teor e na composição de seus óleos essenciais (ALMEIDA et al., 2010; JUNKER; THOLL, 2013; PINTO-ZEVALLOS et al., 2013).

Segundo Fejér et al. (2018), a produção de óleo essencial está conectada a condições metabólicas que refletem as interações que ocorrem entre a planta e fatores ambientais. Os autores verificaram que flutuações nas propriedades do solo (pH e conteúdo de humus), altitude e quantidade de chuva afetam o teor e a composição de óleo essencial em *Juniperus communis*. O balanço químico do solo, conteúdo de macro e micronutrientes, também foi fundamental na composição do óleo essencial de *Baccharis trimera* (SILVA et al., 2007). Além da composição química do solo e quantidade de água disponível, temperatura e radiação solar são imprescindíveis no processo de fotossíntese. Os precursores na biossíntese de terpenos e arilpropanoides são produtos deste processo vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2009). Alterações diurnas e sazonais destes fatores podem influenciar o teor e a composição dos óleos essenciais, como relatado por Cerqueira et al. (2009) e Oliveira, A. R. M. F. et al. (2012).

### 2.1.3 Usos e importância econômica

A utilização dos óleos essenciais é remota, com registros desde o ano 2800 aC. Os indianos, chineses e egípcios os usavam em suas práticas religiosas e também para fins terapêuticos. Em antigos escritos destas civilizações são mencionadas diversas substâncias aromáticas derivadas de diferentes espécies de plantas (ALI et al., 2015). Os gregos e os romanos também difundiram a utilização de óleos essenciais como terapias alternativas e cosméticos, ensinamento que trouxeram dos egípcios para a Europa. Porém, foi na idade média onde a utilização de óleos essenciais foi popularizada, devido as cruzadas (LAWLESS, 2013).

Segundo Mimica-Dukic (2010), os óleos essenciais apresentam propriedades antioxidantes, ou seja, apresentam efeito protetor frente a espécies reativas de oxigênio que podem causar injúrias a macromoléculas (proteínas, lipídeos e ácidos

nucléicos). Por outro lado outros trabalhos demonstram que os óleos essenciais e seus compostos podem promover efeitos citotóxicos, não apresentando tal efeito protetor, que por sua vez é importante para que exerçam suas atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, entre outras (BAKKALI; AVERBECK; IDAOMAR, 2008; VIEIRA et al., 2012). Sinha et al. (2014) estudou o efeito de óleos essenciais e Turkez et al. (2015) o de monoterpenos sobre linfócitos humanos. Os resultados demonstraram em ambos os trabalhos a indução de estresse oxidativo e apoptose em altas concentrações. Resultados semelhantes foram descritos por Nickolic et al. (2011) que testaram alguns compostos terpênicos sobre células mamárias e bactérias e evidenciaram a ação destes compostos sobre o processo de reparo de DNA.

Devido ao conhecimento dessas ações, o uso de óleos essenciais tem crescido nos últimos anos. Atualmente os óleos essenciais são muito utilizados nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética como conservantes de alimentos, além de conferir sabor e aroma especiais a produtos alimentícios, de higiene, de perfumaria e de limpeza e como fontes de princípios ativos (LUBBE; VERPOORTE, 2011; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; SACHIN et al. 2016).

Segundo Raut e Karuppaiyl (2014), foram estudados cerca de 3.000 óleos essenciais, sendo destes 300 de importância comercial, com produção anual de aproximadamente de 60.000 toneladas. O Brasil destaca-se neste cenário mundial, juntamente com a Índia, a China e a Indonésia, sendo o país que mais exporta óleos essenciais de cítricos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). No ano de 2018 foram exportados um montante de US\$ 292.287.331 de óleos essenciais, dos quais 88% deste valor foi impulsionado pelo óleo essencial de laranja (COMEXSTAT, 2019).

Apesar do destaque do Brasil no mercado mundial de óleos essenciais, a indústria ainda recebe pouco investimento. Porém, a grande potencialidade do país é evidente, pois apresenta uma das maiores biodiversidades vegetais do mundo, com aproximadamente 20% de todas as espécies descritas (FORZZA et al., 2015). Muitas das famílias reconhecidamente consideradas aromáticas ocorrem em território nacional, sendo muitas espécies endêmicas e ainda não exploradas.

## 2.2 PROPAGAÇÃO

A propagação de plantas envolve a multiplicação de indivíduos através de métodos sexuais e assexuais. O método sexual consiste na produção de mudas a partir da germinação de sementes. A propagação assexuada, ou vegetativa, envolve a utilização de partes como caules, folhas e raízes, para a formação de indivíduos genotipicamente semelhantes. Segundo Dias et al. (2012), a propagação sexual resulta na heterogeneidade das mudas quanto a caracteres fenotípicos, como por exemplo produtividade e composição de metabólitos secundários, devido, principalmente, a variabilidade genética, porém proporcionam maior adaptação do material em diferentes condições de solo e clima. Plantios mais uniformes, com a manutenção das características de plantas matrizes selecionadas podem ser alcançados através de propagação vegetativa, uma vez que as mudas obtidas são clones das plantas fornecedoras dos propágulos vegetativos (FRANZON; CARPENEDO; SILVA, 2010).

Além da variabilidade promovida pela propagação sexual, existem outras desvantagens do método quando comparado aos métodos de propagação vegetativa. A fase juvenil em plantas oriundas de propagação sexual é mais prolongada, podem apresentar um longo período improdutivo (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHITIGAL, 2005). A dormência das sementes, sementes recalcitrantes ou baixas taxas de germinação de muitas espécies limitam a produção de mudas por via sexual (WENDLING; DUTRA; GROSSI, 2006; LEI, 2010; CARDOSO; ALVES; ALVES, 2015; SILVA et al., 2016).

### 2.2.1 Propagação vegetativa

Métodos de propagação vegetativa para espécies onde se visa obter mudas com as mesmas características genéticas das plantas matrizes, com pequeno período da fase juvenil e que apresentem dificuldades de propagação seminal em decorrência de fatores que afetam a germinação de sementes, são alternativas ao método sexual. Além do mais, os métodos assexuais de propagação reduzem o tempo de obtenção de mudas (LIMA et al., 2011).

Os métodos de propagação vegetativa baseiam-se no princípio da totipotência das células vegetais, ou seja, apresentam informação genética capaz de gerar um indivíduo completo (ALMEIDA et al., 2015).

As principais técnicas de propagação vegetativa são a alporquia, a mergulhia, a encostia, a propagação por estruturas especializadas, a propagação *in vitro*, a enxertia e a estaquia.

### 2.2.2 Estaquia e miniestaquia

A estaquia é o método mais utilizado, pois é um método que apresenta baixo custo, sem a necessidade de mão de obra especializada, obtém-se grande quantidade de mudas em pequeno período de tempo (HARTMANN et al., 2002). Na estaquia segmentos são retirados da planta matriz para a formação de uma nova planta.

Segundo Hartmann et al. (2002), a emissão de raízes adventícias a partir de estacas apresentam as seguintes etapas:

1. Desdiferenciação de células especializadas, tornando-se meristemáticas;
2. Formação de raízes iniciais, a partir das células desdiferenciadas, localizadas próximas aos tecidos vasculares;
3. Desenvolvimento de primórdios radiciais;
4. Emergência dos primórdios radiciais e formação do tecido de condução.

Outras técnicas derivadas da estaquia convencional têm sido desenvolvidas para a produção de mudas comerciais, dentre elas a miniestaquia (FERRIANI; ZUFFELLATO-RIBAS; WENDLING, 2010) que consiste na promoção de brotações secundárias a partir de uma minicepa, seja ela oriunda da germinação de sementes ou de estacas enraizadas (MARINHO et al., 2009).

As vantagens da miniestaquia em relação a estaquia convencional estão no pequeno espaço utilizado para a manutenção do minijardim e otimização no manejo das minicepas. Também são relatados melhores porcentagens de enraizamento, pois as miniestacas apresentam certo grau de rejuvenescimento de seus tecidos (DIAS et al., 2012). Por outro lado, as miniestacas apresentam maior sensibilidade as condições ambientais e tem-se a necessidade de maior rapidez entre a coleta e seu estabelecimento em casa de vegetação (CALDEIRA et al., 2016).

### 2.2.3 Fatores que afetam a emissão de raízes adventícias

O sucesso na emissão de raízes adventícias depende de fatores internos ao material vegetal e também de fatores externos. Entre os fatores intrínsecos podem ser citados a idade ontogenética e fisiológica do tecido, o tipo de estacas, a concentração de fitohormônios, características genéticas, estado nutricional, presença ou ausência de barreiras anatômicas e de cofatores (FELZENER et al., 2007; PEREIRA; PERES, 2016). Temperatura, luz, umidade, fatores relacionados a sazonalidade, tipo de substrato, utilização de reguladores vegetais são exemplos de fatores externos que podem influenciar no desenvolvimento do sistema radicial nas estacas (OLIVEIRA, Y. et al., 2012; FAGANELLO et al., 2015; FRAGOSO et al., 2015; MENEZES; SAMPAIO; BLIND, 2018). Segundo Gatti et al. (2011), o sucesso da propagação vai depender da interação entre os fatores intrínsecos e extrínsecos.

Para Hartmann et al. (2002), as espécies podem ser classificadas quanto a dificuldade de enraizamento em três grupos:

1. Fácil - sem a necessidade de reguladores vegetais para a emissão de raízes, geralmente apresentam substâncias endógenas que favorecem o enraizamento (auxinas e cofatores);

2. Relativamente fácil - estas plantas apresentam cofatores que auxiliam no enraizamento, porém apresentam baixas concentrações de auxina endógenas sendo necessária a aplicação de auxina exógena para enraizamento;

3. Difícil - aplicação de reguladores vegetais não é suficiente para enraizamento, estas espécies apresentam baixas concentrações de cofatores do enraizamento e também podem apresentar inibidores que impedem o processo rizogênico.

Geralmente o enraizamento é dependente do grau de juvenildade do material vegetal. Segundo Ferrari, Grossi e Wendling (2004), estacas provenientes de fontes mais jovens enraízam facilmente quando comparadas com fontes mais maduras. Existe um grau de maturação ao longo da planta, sendo as regiões mais juvenis próximas a base da árvore e as mais maduras no ápice (HARTMANN et al., 2002). Este gradiente de maturidade se deve, principalmente, a diferenças morfológicas, fisiológicas e/ou bioquímicas (WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014).

Portanto técnicas que promovem a obtenção de propágulos juvenis de plantas maduras (rejuvenescimento) têm sido empregadas para propagação vegetativa. Micropropagação seriada, enxertia seriada, estaquia seriada e podas drásticas são alguns métodos utilizados (WENDLING; XAVIER, 2003; WENDLING, 2004; SCHUCH et al., 2008; LIMA et al., 2011; PEÑA; ZANETTE; BIASI, 2015).

### 2.3 *Eugenia uniflora*

#### 2.3.1 Caracterização botânica da espécie

*Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitangueira, pertence a família Myrtaceae, que corresponde a 1,32% das angiospermas conhecidas (SOARES-SILVA, 2000). As mirtáceas estão distribuídas em duas subfamílias, Leptospermoideae e Myrtoideae, ocupam todos os continentes do Hemisfério Sul, possuem sua maior diversidade na região neotropical e Austrália (SYSTMA et al., 2004). Poole, Hunt e Cantrilli (2001) encontraram exemplares fósseis também no continente Antártico, corroborando que a atual distribuição desta família deva ter se dado a partir da quebra do Gondwana. Atualmente compreende aproximadamente 130 gêneros e 3800 a 5800 espécies (SOUZA et al., 2018).

As espécies neotropicais desta família se apresentam como arbustos e árvores com folhas opostas e simples e margem inteira. Suas inflorescências são axilares ou terminais, com flores bissexuais, geralmente de cor branca e com estames numerosos (LUGHADHA; PROENÇA, 1996). Segundo Barroso (1991) seus frutos podem se apresentar em formas carnosas e do tipo baga.

A família Myrtaceae no Brasil é uma das com maior riqueza na maioria das formações vegetais. São descritos 23 gêneros e 1.034 espécies, das quais 786 são endêmicas (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014; SOBRAL et al., 2015). Embora a família Myrtaceae seja relatada por muitos autores bem representativa na flora brasileira, ela ocupa apenas a oitava posição entre as famílias de angiospermas mais diversas (TABELA 2.1), porém está entre as que apresentam maior porcentual de espécies endêmicas (FORZZA et al., 2015).

TABELA 2.1 - AS DEZ FAMÍLIAS MAIS DIVERSAS DE ANGIOSPERMAS OCORRENTES NO BRASIL, NÚMERO TOTAL DE GÊNEROS, NÚMERO TOTAL DE ESPÉCIES E O PORCENTUAL DE ENDEMISSMO

Família	n°. gêneros	n°. espécies	Endemismo (%)
Fabaceae	221	2810	53,91
Orchidaceae	221	2499	64,03
Asteraceae	280	2075	63,47
Poaceae	225	1479	33,47
Rubiaceae	124	1393	52,33
Melastomataceae	67	1375	65,31
Bromeliaceae	44	1348	87,54
Myrtaceae	23	1034	76,02
Euphorbiaceae	63	945	67,72
Apocynaceae	77	757	53,50

FONTE: FORZZA et al. (2015).

As espécies da família Myrtaceae com ocorrência no Brasil apresentam grande importância por serem muitas delas produtoras de frutas comestíveis. Algumas delas já possuem cultivos consolidados, outras são muito promissoras e podem ser exploradas para a produção de frutos. Também apresentam intensivo uso na medicina tradicional. São utilizadas no tratamento de sintomas de gripe e sinusite (LORENZI; MATOS, 2002), também no tratamento de bronquites, asma, disenteria, úlceras e utilizadas no controle de diabetes, além de propriedades que são ditas antibacterianas, antifúngicas, antivirais e com efeitos antialérgicos e anticlastogênicos (BALIGA et al, 2011; NERI-NUMA et al., 2013).

O gênero *Eugenia* compreende aproximadamente 1000 espécies, sendo que a maioria delas apresenta ocorrência entre o México e o Norte da Argentina e pertencem a família Myrtaceae (MERWE; WYK; BOTHA, 2005). No Brasil o gênero apresenta 379 espécies com aproximadamente 77% deste número endêmicas (SOBRAL et al., 2015). Mazine et al. (2014) consideram este gênero como um grupo complexo taxonômico pois apresentam inúmeras dificuldades na identificação de suas espécies, devido principalmente a sua homogeneidade morfológica.

Dentre as inúmeras espécies do gênero destaca-se *Eugenia uniflora* que apresenta distribuição em todo o território nacional além de Uruguai, Argentina e Paraguai. É amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais devido ao seu potencial frutífero e também em outras regiões e países, como Estados Unidos, China e França, principalmente pela sua alta adaptabilidade em diferentes solos e condições climáticas (CHAVES, 2013). Apresenta grande importância ecológica e

alto potencial comercial. É uma espécie importante na recomposição vegetal, pois possibilita equilíbrio biológico e ecológico (FERNANDES; PASIN, 2018). É considerada como uma importante fonte de alimento para inúmeros pássaros e mamíferos, os quais são responsáveis pela dispersão de suas sementes (GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006)

Segundo Lira Jr. et al. (2007), ainda que *Eugenia uniflora* apresente alta adaptabilidade a diversos tipos de solo e climas, podendo ser cultivadas em diversas regiões do globo terrestre, o Brasil ainda é o maior produtor da fruta, sendo Pernambuco e Bahia os estados brasileiros com maior área de pitangueiras plantadas. A fruta possui valor comercial agregado devido sabores e aromas exóticos e também por apresentarem carotenóides, compostos fenólicos, tocoferóis e vitamina C (OLIVEIRA et al., 2006; MORAIS et al., 2013; MIGUES et al., 2018). A polpa de pitanga é utilizada em indústrias de suco, sorvetes, geléias, licores ou comercializada *in natura* ou congelada.

*E. uniflora* apresenta uma grande variedade de características morfológicas e físico-químicas demonstrada principalmente em seus frutos (DIAS et al., 2011; CHAVES, 2013). Segundo Griffs e Manners (2005) a coloração dos frutos varia de amarelo a vermelho intenso. Além da coloração dos frutos outros caracteres como a presença e ausência de sulcos, tamanho, acidez, concentração de solutos solúveis totais e número de sementes também são relatados com grande variação (LIRA Jr et al., 2007).

### 2.3.2 Óleos essenciais de *E. uniflora*

A espécie apresenta inúmeros metabólitos secundários com diferentes efeitos biológicos (MOURA et al., 2018), entre eles antimicrobiano, antioxidante, ação inseticida e efeito anti-helmintíco. Apesar dos evidenciados efeitos, Costa et al. (2013) relatam a necessidade de mais estudos para elucidar seus potenciais farmacológicos.

Victoria et al. (2012) demonstraram atividade antioxidante em diferentes ensaios e também os efeitos antibacterianos e antifúngicos de seus óleos essenciais. Outros estudos também indicaram a potencialidade dos óleos essenciais desta espécie como fontes de substâncias que podem ser isoladas pela indústria farmacêutica prescritas para o tratamento de diferentes desordens humanas (ONGUWANDE et al., 2005; RODRIGUES et al., 2013).

A composição de óleos essenciais de folhas de pitangueiras pode estar associada à coloração dos frutos. Costa et al. (2010) demonstraram a existência de três composições distintas de acordo com o biotipo de cor dos frutos. O óleo essencial desta espécie também apresentou uma variação de compostos químicos quando extraídos de folhas jovens e maduras (SANTOS; BRAZ-FILHO; CASTRO, 2015). A maioria dos estudos em óleos essenciais de *E. uniflora* demonstram a classe de sesquiterpenos em grande quantidade, sendo o curzereno como composto majoritário (ONGUWANDE et al., 2005; CHANG et al., 2011; LAGO, et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013).

Porém, existem algumas variações na composição e concentração dos óleos, demonstrando grande complexidade de quimiotipos observados nesta espécie (TABELA 2.2). Victoria et al. (2012) estudaram uma variedade de *E. uniflora* cujos compostos majoritários se tratavam de germacreno B e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona. Este último componente também foi observado como majoritário por Costa et al. (2009) em plantas coletadas em estação úmida na região de cerrado, estado de Goiás. No entanto, estes mesmos autores quando realizaram coletas em época seca, identificaram uma variação na composição do óleo essencial das mesmas plantas, sendo que os compostos majoritários identificados foram o espatulenol e o óxido de cariofileno.

TABELA 2.2 - VARIABILIDADE NA COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eugenia uniflora*.

Referências	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Local de Coleta	RS	RS	RS	RS	SP	SP	RJ	GO	DF	CE	CE	CE	MA	PA	Egito	Nigéria	Índia	
Estação de Coleta	Verão	nd	Verão	Primavera	nd	Outono	nd	Verão	nd	Primavera	Inverno	Verão	Verão	nd	nd	Primavera	nd	
Material Vegetal	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	Folhas	
Compostos Majoritários (%)																		
(Z)-cariofileno																		9,85
Attractylone		29,80				26,78					11,78							16,90
Curzereno		7,80				17,96	22,37	16,60			48,06		47,30	30,00				19,70
Elixeno				24,47														
Epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one			19,30		17,00			29,00		48,52		27,32			15,80			10,72
Espatuleno																		17,19
Furanodieno		8,30					18,99											
Germacreno A			11,60											15,60				9,08
Germacreno B			21,20		10,50	9,31	14,39		16,60									
Germacreno D			11,40															
Germacrona								37,86						32,80				
Muurola-4,10-dien-1β-ol																		
Naftaleno									9,15									9,30
nerolidol	25,20																	
Óxido de cariofileno									44,70									
selina-1,3,7(11)-trien-8-one		31,20	9,70		34,00			43,00		17,33		36,37						17,80
Trans-β-elemenona													10,40					
Widdrol									21,30									
α-copaeno																		10,96
α-selineno	15,10																	
β-cariofileno			12,60															
β-guaieno									9,52									
β-selineno	25,90																	
γ-elemeneno											13,49							
γ-himachaleno				24,16														14,25

FONTE: O autor (2019)

LEGENDA: **1** – Henriques et al. (1993); **2** – Brun e Mossi (2010); **3** – Victoria et al. (2012); **4** – Garcia (2018); **5** – Gallucci et al. (2010); **6** – Lago et al. (2011); **7** – Santos, Braz-filho e Castro (2015); **8** – Costa et al. (2009); **9** – Martins (2015); **10** – Morais et al. (1996); **11** – Cunha et al. (2015); **12** – Santos et al. (2018); **13** – Rodrigues et al. (2013); **14** – Maia et al. (1999); **15** – Sobeh et al. (2016); **16** – Ogunwande et al. (2005); **17** – Thambi et al. (2013). **RS** = Rio Grande do Sul; **CE** = Ceará; **PA** = Pará; **GO** = Goiás; **SP** = São Paulo; **MA** = Maranhão; **DF** = Distrito Federal (Brasília); **RJ** = Rio de Janeiro. **nd** = não determinado.

### 2.3.3 Propagação de *E. uniflora*

A propagação de *E. uniflora* se dá principalmente por sementes, sendo a alogamia a estratégia principal de reprodução da espécie (SILVA; PINHEIRO, 2007). A propagação seminal promove grande variabilidade nas características dos frutos e na composição de metabólitos secundários, o que não é interessante para a implantação de pomares comerciais. Além disso, as sementes de *E. uniflora* são consideradas recalcitrantes, não toleram o dessecamento, e portanto, não é recomendado o seu armazenamento, diminuindo drasticamente seu potencial de germinação (DELGADO; BARBEDO, 2007).

A propagação assexuada da espécie pode ser uma alternativa para promover a uniformidade dos cultivos e contornar problemas na germinação das sementes. Porém, *E. uniflora* também apresenta dificuldades no método de propagação vegetativa por estaquia, segundo Franzon et al. (2010), como na grande maioria das espécies da família Myrtaceae, os percentuais de enraizamento não são satisfatórios. Tais dificuldades podem estar relacionadas com a carga genética e a idade da planta matriz, com altos teores de compostos fenólicos e barreiras anatômicas (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHITIGAL, 2005). Por essa razão inúmeros protocolos com outras técnicas de propagação vegetativa têm sido pesquisados para a fixação de características agrônômicas, fitoquímicas e a obtenção de propágulos rejuvenescidos, como por exemplo, a enxertia (FRANZON et al., 2008; LATTUADA; SPIER; SOUZA, 2011), a miniestaquia (PEÑA; ZANETTE; BIASI, 2015) e a micropropagação (SOUZA et al. 2008; SILVA et al., 2014).

## REFERÊNCIAS

- ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pac. J. Trop. Biomed.**, v. 5, n. 8, p. 589-598, 2015.
- ALMEIDA, L. F. R.; FREI, F.; MANCINI, E.; MARTINO, L.; FEO, V. Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. **Molecules**, v. 15, p. 4309-4323, 2010.

ALMEIDA, M.; GRANESR, E. M.; BRONDANI, G. E.; OLIVEIRA, L. S.; ARTOLI, F. A.; ALMEIDA, L. V.; LEONE, G. F.; BACCARIN, F. J. B.; ANTONELLI, P. O.; CORDEIRO, G. M.; OBERSCHELP, G. P. J.; PIOTTO, K. D. B. Plant morphogenesis: theoretical bases. **Adv. For. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 13-22, 2015.

ASBAHANI A. E.; MILADI, K.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASBIANCA, H.; MOUSADIK, A.; HARTMANN, D.; JILALE, J.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oil: From extracion to encapsulation. **Int. J. Pharm.**, v. 483, p. 220-243, 2015.

BAKKALI, F.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chem. Toxicol.**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BALIGA, M. S.; BHAT, H. P.; BALIGA, B. R. V.; WILSON, R.; PALATTY, P. L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (black plum): A review. **Food Res. Int.**, v.44, p. 1776–1789, 2011.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, v. 2. 1991.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial**. Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 1ª edição, Curitiba, 2009.

BIZZO, H. R., HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, v.32, n.3, P. 588-594, 2009.

BRUN, G. R.; MOSSI, A. J. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Perspectiva**, v.34, n.127, p. 135-142, 2010.

CALDEIRA, M. V. W.; GONÇALVES, E. O.; WENDLING, I.; MARTINS, R. C. C. Produção de mudas. *In*: SCHUMACHER, M. V.; VIEIRA, M. **Silvicultura do Eucalipto no Brasil**. 3ª ed., Santa Maria/ RS, Ed. UFSM, 2016.

CARDOSO, E. A.; ALVES, E. U.; ALVES, A. U. Qualidade de sementes de pitombeira em função do período e da temperatura de secagem. **Semina: Ciênc. Agrár.**, v36, n1, p. 7-16, 2015.

- CARSON, C. F.; HAMMER, K. A. Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In: THORMAR, H. **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**. 1<sup>a</sup> ed. John Wiley & Sons, p.223-238, 2011.
- CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, I. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - a review. **Int. J. Cosmet. Sci.**, v.38, p. 109-119, 2016.
- CERQUEIRA, M. D.; MARQUES, E. J.; MARTINS, D.; ROQUE, F. N.; CRUZ, F. G. Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). **Quim. Nova**, v.32, n.6, p. 1544-1548, 2009.
- CHANG, R. MORAIS, S. A. L.; DUARTE, K. C.; GUZMAN, V. B.; NASCIMENTO, E. A. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 21, n. 3, p. 392-396, 2011.
- CHAVES, M. A.; BARRETO, I. M. A.; REIS, R. C.; KADAM, D. M. Physicochemical and sensory properties of purple Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) foams. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 48, p. 1688–1697, 2013.
- CHEYNIER, V.; COMTE, G.; DAVIES, K. M.; LATTANZIO, V.; MARTENS, S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiol. Biochem.**, v. 72, p. 1-20, 2013.
- COMEXSTAT. **Exportação e importação geral**. Disponível em <comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>. Acesso em 14 Fev. 2019.
- COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. **J. Funt. Foods**, v. 5, p. 539-549, 2013.
- COSTA, D. P.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; SANTOS, S. C.; PASSOS, X. S.; SILVA, M. R.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Influence of Fruit Biotypes on the Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 5, p. 851-858, 2010.
- COSTA, D. P.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 7, p. 1287-1293, 2009.

CUNHA, F. A. B.; WALLAU, G. L.; PINHO, A. I.; NUNES, M. E. M.; LEITE, N. F.; TINTINO, S. R.; COSTA, G. M.; ATHAYDE, M. L.; BOLIGON, A. A.; COUTINHO, H. D. M.; PEREIRA, A. B.; POSSER, T.; FRANCO, J. L. *Eugenia uniflora* leaves essential oil induces toxicity in *Drosophila melanogaster*: involvement of oxidative stress mechanisms. **Toxicol. Res.**, v. 4, n. 3, p. 634-644, 2015.

DELGADO, L. F.; BARBEDO, C. J. Tolerância à dessecação de sementes de espécies de *Eugenia*. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 42, n. 2, p. 265-272, 2007.

DHANDAPANI, S.; JIN, J.; SRIDHAR, V.; SAROJAM, R.; CHUA, N.; JANG, I. Integrated metabolome and transcriptome analysis of *Magnolia champaca* identifies biosynthetic pathways for floral volatile organic compounds. **BMC Genomics**, 18, p. 1-18, 2017.

DIAS, A. B.; CARVALHO, M. A. P.; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, V. J. A. Variabilidade e caracterização de frutos de pitangueiras em municípios baianos. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 33, n. 4, p. 1169-1177, 2011.

DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e minestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesq. Flor. Bras.**, v. 32, n. 72, p. 453 – 462, 2012.

FACANALI, R.; CAMPOS, M. M. S.; MING, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; MARQUES, M. O. M. Biologia reprodutiva de populações de *Ocimum selloi* Benth. **Rev. Bras. Ol. Med.**, v. 11, n. 2, p. 141-146, 2009.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A. NACHITIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

FAGANELLO, L. R.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Efeitos dos ácidos indolbutírico e naftalenoacético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud. **Ci. Fl.**, v. 25, n. 4, p. 863-871, 2015.

FEJÉR, J.; GRUL'OVÁ, D.; ELIAŠOVÁ, A.; KRON, I.; FEO, V. Influence of environmental factors on content and composition of essential oil from common juniper ripe berry cones (*Juniperus communis* L.). **Plant Biosyst.**, v. 152, n. 6, p. 1227–1235, 2018.

FELZENER, L. T.; BARREIRO, A. P.; ONO, E. O.; BARROS-CARDOSO, S. A.; RODRIGUES, J. D. Efeitos de reguladores vegetais no enraizamento de estacas caulinares de *Poncirus trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 29, n. 2, p. 399-402, 2007.

FERNANDES, A. C. T.; PASIN, L. A. A. P. Influência de diferentes substratos no desenvolvimento inicial de mudas de pitangueira. **Rev. Ciên. Amb.**, v. 12, n. 3, p. 63-71, 2018.

FERRARI, M. C.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo, Embrapa Florestas, 2004.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. Miniestaquia aplicada a espécies florestais. **Rev. Agro@ambiente On-line**, v. 4, n. 2, p. 102-109, 2010.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Fragr. J.**, v. 23, p. 213–226, 2008.

FORZZA, R. C.; COSTA, A.; WALTER, B. M. T.; PIRANI, J. R.; MORIM, M. P.; QUEIROZ, L. P.; MARTINELLI, G.; PEIXOTO, A. L.; COELHO, M. A. N.; BAUMGRATZ, J. F. A.; STEHMANN, J. R.; LOHMANN, L. G. 2015. **Angiospermas in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB128482>>. Acesso em: 27 Fev. 2019.

FRAGOSO, R. O.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARANHÃO, G.; STUEPP, C. A.; KOEHLER, H. S. Propagação vegetativa de *Juniperus chinensis*. **Com. Sci.**, v. 6, n. 3, p. 307-316, 2015.

FRANZON, R. C.; CARPENEDO, S.; SILVA, J. C. S. **Produção de Mudas: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras**. Planaltina/DF, Embrapa Cerrados, 2010

FRANZON, R. C.; GONÇALVES, R. S.; ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. Propagação vegetativa de genótipos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) do sul do Brasil por enxertia de garfagem. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 32, n. 1, p. 262-267, 2010.

FRANZON, R. C.; GONÇALVES, R. S.; ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B.; TREVISAN, R. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 30, n. 2, p. 488-491, 2008.

GALLUCCI, S.; PLACERES NETO, A.; PORTO, C.; BARBIZAN, D.; COSTA, I.; MARQUES, K.; BENEVIDES, P. FIGUEIREDO, R. Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: an industrialperfumary approach. **J. Essent. Oil Res.**, v. 22, p. 176-179, 2010.

GARCIA, M. O. **Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, 2018.

GATTI, K. C.; GONÇALVES, R. C.; XAVIER, A.; PAIVA, H. Propagação vegetativa de jequitibá *Cariniana estrellensis* (Raddi) por miniestaquia. **Temas Agrar.**, v. 16, n 2, p. 54-63, 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P. C. Plinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Rev. Brasil. Bot.**, v. 29, n .4, p. 509-530, 2006.

GRIFFS, J. L.; MANNERS, M. M. Inheritance of fruit color in Surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) – A preliminary study. **Proc. Fla. State Hort. Soc.**, v. 118, p. 198-199, 2005.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVEIS, JR. F. T.; GENEVE, R.L. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 7<sup>a</sup> ed., New Jersey: Prentice-Hall, 2002.

HENRIQUES, A. T.; SOBRAL, M. E.; CAUDURO, A. D.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L. Aromatic plants from Brazil. II. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils. **J. Essent. Oil Res.**, v. 5, p. 501-505, 1993.

JUNKER, R. R.; THOLL, D. Volatile organic compound mediated interactions at the plant-microbe interface. **J. Chem. Ecol.**, v. 39, p. 810–825, 2013.

LAGO, J. H. G.; SOUZA, E. D.; MARIANE, B.; PASCON, R.; VALLIM, M. A.; MARTINS, R. C. C.; BAROLI, A. A.; CARVALHO, B. A.; SOARES, M. G.; SANTOS, R. T.; SARTORELLI, P. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae — *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, v. 16, p. 9827-9837, 2011.

LATTUADA, D. S.; SPIER, M.; SOUZA, P. V. D. Pré-tratamento com água e doses de ácido indolbutírico para estaquia herbácea de pitangueiras. **Cienc. Rur.**, v. 41, n. 12, p. 2073-2079, 2011.

LAWLESS, J. **The Encyclopedia of Essential oils - The Complete Guide to the Use of Aromatics Oils in Aromatherapy, Herbalism, Health & Well-Being.** Conari Press, San Francisco, California. 2013.

LEI, S. A. Benefits and costs of vegetative and sexual reproduction in perennial plants: A review of the literature. **J. Arizona-Nevada Acad. Sci.**, v. 42, n. 1, p. 9-14, 2010.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LIRA Jr, J. S.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA Jr, J. F. **Pitangueira.** Recife : Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e exóticas cultivadas.** 1ª Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de estudos da flora Ltda, 2002.

LUBBE, A.; VERPOORTE, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. **Ind. Crops Prod.**, v. 34, n. 1, p. 785-801, 2011.

LUGHADHA, E. N.; PROENÇA, C. E. B. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Ann. Missouri Bot. Garden**, v. 83, p. 480-503, 1996.

MAFFEI, M. E. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. **S. Afr. J. Bot.**, v. 76, p. 612-631, 2010.

MAIA, G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L.; ZOGHBI, M. G. B. A New chemotype of *Eugenia uniflora* L. from north Brazil. **J. Essent. Oil Res.**, v. 11, p. 727-729, 1999.

MANDOULAKANI, B. A.; EYVAZPOUR, E.; GHADIMZADEH, M. The effect of drought stress on the expression of key genes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids and essential oil components in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Phytochem.**, 139, p. 1-7, 2017.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMMER, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 31, n. 2, p. 607-611, 2009.

MARTINS, A. S. **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de espécies do gênero *Eugenia* (Myrtaceae)**. 2015. Trabalho de conclusão de curso (Farmácia) - Universidade de Brasília, Brasília/DF, 2015.

MAZINE, F. F.; SOUZA, V. C.; SOBRAL, M.; FOREST, F.; LUCAS, E. A preliminary phylogenetic analysis of *Eugenia* (Myrtaceae: Myrteae), with a focus on Neotropical species. **Kew Bull.**, v. 69, p. 9497, 2014.

MENEZES, A.; SAMPAIO, P. T. B.; BLIND, A. D. Propagação de Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Duke) por estacas e minestacas. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 515-521, 2018.

MERWE, M. M.; WYK, A. E.; BOTHA, A. M. Molecular phylogenetic analysis of *Eugenia* L. (Myrtaceae), with emphasis on southern African taxa. **Plant Syst. Evol.**, v. 251, p. 21–34, 2005.

MIGUES, I.; BAENAS, N.; GIRONÉS-VILAPLANA, A.; CESIO, M. V.; HEISEN, H.; MORENO, D. Phenolic profiling and antioxidant capacity of *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) samples collected in different uruguayan locations. **Foods**, v. 7, p. 67, 2018.

MIMICA-DUKIC, N.; BUGARIN, D.; GRBOVIC, S.; MITIC-CULAFIC, D.; VUKOVIC-GACIC, B.; ORCIC, D.; JOVIN, E.; COULADIS, M. Essential Oil of *Myrtus communis* L. as a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents. **Molecules**, v. 15, p. 2759-2770, 2010.

MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. M. Família Myrtaceae: Análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Agrar. Acad.**, v. 1, n. 1, p. 317-346, 2014.

MORAIS, S. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I.L.; ALENCAR, J. W.; MATOS, F. J. A. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from northeastern Brazil. **J. Essent. Oil Res.**, v. 8, n. 4, p. 449-451, 1996.

MORAIS, S. M.; LIMA, K. S. B.; SIQUEIRA, S. M. C.; CAVALCANTI, E. S. B.; SOUZA, M. S. T.; MENEZES, J. E. S. A.; TREVISAN, M. T. S. Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. **Rev. Bras. Pi. Med.**, v. 15, n. 4, p. 575-582, 2013.

MOURA, G. S.; OLIVEIRA, I. J.; BONOMEL, L. T.; FRANZENER, G. *Eugenia uniflora* L.: potential uses as a bioactive plant. **Arq. Inst. Biol.**, v. 85, p. 1-9, 2018.

NERI-NUMA, I. A.; CARVALHO-SILVA, L. B.; MORALES, J. P.; MALTA, L. G.; MURAMOTO, M. T.; FERREIRA, J. E. M.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; MARÓSTICA Jr, M. R.; PASTORE, G. M. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Res. Int.**, v. 50, p. 70–76, 2013.

NIKOLIC, B.; MITIC-CULAFIC, D.; VUKOVIC-GACIC, B.; KENEZEVIC-VUKCEVIC, J. Modulation of genotoxicity and DNA repair by plant monoterpenes camphor, eucalyptol and thujone in *Escherichia coli* and mammalian cells. **Food Chem. Toxicol.**, v. 49, p. 2035–2045, 2011.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **The Int. J. Aromat.**, v. 15, p. 147–152, 2005.

OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chem.**, v. 99, p. 1–5, 2006.

OLIVEIRA, A. R. M. F.; JEZLER, C. N.; OLIVEIRA, R. A.; MIELKE, M. S. COSTA, L. C. B. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. **Hortic. Bras.**, v. 30, n. 1, 2012.

OLIVEIRA, Y.; ALCANTARA, G. B.; GUEDES, I.; PINTO, F.; QUIORIN, M.; BIASI, L. A. Substratos, concentrações de ácido indolbutírico e tipos de miniestacas no enraizamento de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 14, n. 4, p. 611-616, 2012.

PEÑA, M. L.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Miniestaquia a partir de minicepas originadas por enxertia de pitangueira adulta. **Com. Sci.**, v. 6, n. 3, p. 297-306, 2015.

PEREIRA, F. B.; PERES, F. S. B. Nutrição e enraizamento adventício de plantas lenhosas. **Pesq. Flor. Bras.**, v. 36, n. 87, p. 319-326, 2016.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, M. A. C.; ZARBIN, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Quim. Nova**, v. 36, n. 9, p. 1395-1405, 2013.

POOLE, I.; HUNT, R. J.; CANTRILLI, D. J. A Fossil Wood Flora from King George Island: Ecological Implications for an Antarctic Eocene Vegetation. **Ann. Bot.**, v. 88, p. 33-54, 2001.

RAHIMMALEK, M.; GOLI, S. A. H. Evaluation of six treatments with respect to essential oil yield, composition and color characteristics of *Thymys daenensis* subsp. *daenensis*. Celak leaves. **Ind. Crops Prod.**, v. 42, p. 613-619, 2013.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal proprieties of essential oils. **Ind. Crops Prod.**, v. 62, p. 250-264, 2014.

RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. V.; OLIVEIRA, J. M. G.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Eugenia uniflora* L. Essential Oil as a potential anti-*Leishmania* agent: effects on *Leishmania amazonenses* and possible mechanisms of action. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, p. 1-10, 2013.

SACHIN, A. J.; BAHALERAIO, P. P.; PATIL, S. J.; DESAI, B. S. Essential oils beyond aroma - a review. **Curr. Hortic.**, v. 4, n. 2, p. 3-6, 2016.

SANTOS, F. R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R. N. influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Quim. Nova**, v. 38, n. 6, p. 762-768, 2015.

SANTOS, J. F. S.; ROCHA, J. E.; BEZERRA, C. F.; SILVA, M. K. N.; MATOS, Y. M. L. S.; FREITAS, T. S.; SANTOS, A. T. L.; CRUZ, R. P.; MACHADO, A. J. T.; RODRIGUES, T. H. S.; BRITO, E. S.; SALES, D. L.; ALMEIDA, W. O.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chemistry**, v. 261, p. 233-239, 2018.

SCHUCH, M. W.; DAMIANI, C. R.; SILVA, L. C.; ERIG, A. C. Micropropagação como técnica de rejuvenescimento em mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cultivar Climax. **Ciênc. Agrotec.**, v. 32, n. 3, p. 814-820, 2008.

SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Bot. Bras.**, v. 21, p. 235-247, 2007.

SILVA, É. C. C.; RUFINI, J. C. M.; PARRELA, N. N. L. D.; CAMPOS, A. S.; NEVES, F. F. Comportamento fisiológico de sementes de *Eugenia dysenterica* DC submetidas à secagem artificial. **Gl. Sci. Technol.**, v. 9, n. 1, p. 7-14, 2016.

SILVA, F. G.; OLIVEIRA, C. B. A.; PINTO, J. E. B. P.; NASCIMENTO, V. E.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability in the essential oils of wild and cultivated *Baccharis trimera*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.18, n. 5, p. 990-997, 2007.

SILVA, P. R. D.; PISPOLI, R. G.; MINOZZO, M. M.; JOBIM, L. H.; JUNGES, M.; STEFENON, V. M. A regenerative route for *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) through in vitro germination and micropropagation. **Ann. For. Res.**, v. 57, n. 1, p. 39-45, 2014.

SINHA, S.; JOTHIRAMAJAYAM, M.; GHOSH, M.; MUKHERJEE, A. Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes. **Food Chem. Toxicol.**, v. 68, p.71–77, 2014.

SOARES-SILVA, L. H. **A família Myrtaceae – subtribos: Myrciinae e Eugeniinae na bacia hidrográfica do Rio Tibagi, estado do Paraná, Brasil.** 2000. 462f. Tese. (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2000.

SOBEH, M.; BRAUN, M. S.; KRSTIN, S.; YOUSSEF, F. S.; ASHOUR, M. L.; WINK, M. Chemical profiling of the essential oils of *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* and *Eugenia uniflora* and their discrimination using chemometric analysis. **Chem. Biodiversity**, v. 13, p. 1537–1550, 2016.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. 2015. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10338>>. Acesso em: 27 Fev. 2019.

SOUZA, A. M.; OLIVEIRA, C. F.; OLIVEIRA, V. B.; BETIM, F. C. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Traditional uses, phytochemistry, and antimicrobial activities of *Eugenia* species – A Review. **Planta Med.**, v. 84, n. 17, p. 1232-1248, 2018.

SOUZA, J. A.; SCHUCH, M. W.; DONINI, L. P.; RIBEIRO, M. F. Tipos e concentrações de citocinina na multiplicação *in vitro* de pitangueira. **Ciê. Rur.**, v. 38, n. 7, 2008.

SYSTEMA, K. J.; LITT, A.; ZJHRA, M. L.; PIRES, J. C.; NEPOKROEFF, M.; CONTI, E.; WALKER, J.; WILSON, P. G. Clades, clocks, and continents: Historical and biogeographical analysis of Myrtaceae, Vochysiaceae, and relatives in the southern hemisphere. **Int. J. Plant Sci.**, v. 165, n. 4, p. 85-105, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 4 ed. Porto Alegre, 2009.

THAMBI, M.; TAVA, A.; MOHANAKRISHNAN, M.; SUBBURA, M. PRADEEPKUMAR, K. M.; SHAFIL, P. M. Composition and antimicrobial activities of the essential oil from *Eugenia uniflora* L. leaves growing in India. **Int. J. Pharm. Biomed. Sci.**, v. 4, n. 1, p. 46-49, 2013.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.**, v. 12, p. 40-53, 2013.

TURKEZ, H.; AYDN, E.; GEYIKOGLU, F.; CETIN, D. Genotoxic and oxidative damage potentials in human lymphocytes after exposure to terpinolene in vitro. **Cytotechnol.**, v. 67, n. 3, p. 409-418, 2015.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SILVA, W. P.; MOTTA, A. S.; NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chem. Toxicol.**, v. 50, p. 2668–2674, 2012.

VIEIRA, P. M.; VERONEZI, E.; SILVA, C. R.; CHEN-CHEN, L. Detection of Genotoxic, Cytotoxic, and Protective Activities of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) in Mice. **J. Med. Food**, v. 15, n. 6, p.563–567, 2012.

VOGT, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Mol. Plant**, v. 3, n. 1, p. 2–20, 2010.

WENDLING, I. **Propagação Vegetativa de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): Estado da Arte e Tendências Futuras**. Colombo, Embrapa Florestas, 2004.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo, Embrapa Florestas, 2006.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. **New Forest.**, v. 45, p. 449-471, 2014.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de clones de Eucalyptus. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 38, n. 4, p. 475-480, 2003.

ZUZARTE, M.; SALGUEIRO, L. Essential oils chemistry. In: DE SOUSA, D. P. **Bioactive Essential Oils and Cancer**, Switzerland: Ed.Springer International Publishing, p. 19-61, 2015.

### 3 VARIABILIDADE QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE GENÓTIPOS DE *Eugenia uniflora* L. E SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### RESUMO

*Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitangueira, é uma Myrtaceae neotropical com importância nas indústrias cosmética e farmacêutica devido à produção de óleo essencial com atividade antioxidante. A pitangueira apresenta alta variabilidade genética e a avaliação de genótipos é necessária para identificar materiais genéticos com produção de óleo essencial que atendam às exigências da indústria. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o teor, composição e atividade antioxidante de óleos essenciais isolados das folhas de 36 genótipos de pitangueiras. Amostras de óleo essencial foram obtidas por hidrodestilação e sua composição determinada por cromatógrafo em fase gasosa acoplado a um espectrômetro de massas. Uma variação de 0,22 a 1,68% no teor de óleo essencial foi observada, sendo identificados 79 compostos, com predomínio de sesquiterpenos oxigenados. De acordo com a análise de clusters dos principais compostos, seis grupos foram identificados. A diversidade observada mostra a variabilidade genética da espécie. A atividade antioxidante também foi afetada pela composição dos óleos essenciais, variando de 176,66 a 867,57  $\mu\text{M}$  TEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox).

Palavras-chave: Pitangueira. DPPH. diversidade genética. Myrtaceae. Sesquiterpenos.

## CHEMICAL VARIABILITY OF THE ESSENTIAL OILS FROM *Eugenia uniflora* L. GENOTYPES AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY.

### ABSTRACT

*Eugenia uniflora*, popularly known as “surinan cherry tree”, is a neotropical Myrtaceae species of importance in the cosmetic and pharmaceutical industries due the antioxidant activity of the essential oil produced in the leaves. This plant species has high genetic variability and the genotype evaluation is necessary to identify those with essential oil production that meet the industry requirements. The main objective of this work was to evaluate the yield, composition and antioxidant activity of the essential oils isolated from leaves of 36 genotypes of “surinan cherry trees”. The essential oil samples were obtained by hydrodistillation and its composition determined by gas chromatograph coupled to a mass spectrometer. A variation of 0.22 to 1.68% in the essential oil yield was observed in the genotypes and 79 compounds were identified, with a predominance of oxygenated sesquiterpenes. According to the cluster analysis of the major compounds, six groups were identified which shows the genetic variability of this species. Antioxidant activity was also affected by the composition of essential oils, ranging from 176.66 to 867.57  $\mu\text{M}$  TEAC.

Keywords: Surinan cherry tree. DPPH. Genetic diversity. Myrtaceae. Sesquiterpenes.

### 3.1 INTRODUÇÃO

*Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como pitangueira, é uma das espécies neotropicais da família Myrtaceae com potencial de uso nas indústrias alimentícia e cosmética.

Até recentemente a espécie vinha sendo utilizada na produção de frutos devido sabores e aromas exóticos e também pelo elevado teor de polpa e valor nutritivo. Sua polpa é utilizada em indústrias de suco, sorvetes, geleias, licores ou comercializada *in natura* ou congelada. Oliveira et al. (2006) relatam que o suco é rico em vitaminas e compostos antioxidantes.

*E. uniflora* apresenta ductos e cavidades secretoras localizados no mesofilo (AMSTRONG; DUARTE; MIGUEL, 2012; RETAMALES; SCHARASCHKINA, 2015; PACHECO-SILVA; DONATO, 2016) onde são sintetizados metabólitos secundários como óleos, resinas e compostos terpênicos (THADEO et al., 2009; STESEVIC et al., 2016; BOMBOA et al., 2017). O óleo essencial, composto principalmente por terpenos pode ser utilizado pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos como fonte de substâncias a serem isoladas contra células tumorais humanas como demonstrado por Onguwande et al. (2005), contra *Leishmania amazonensis* (RODRIGUES et al., 2013; SILVA et al., 2018) e por apresentarem atividade antioxidante (VICTORIA et al., 2012).

A composição química dos óleos essenciais das espécies aromáticas apresenta grande variabilidade devido a fatores ambientais. Em *E. uniflora* existem relatos de variabilidade na composição do óleo essencial coletados em diferentes épocas do ano, alterando a porcentagem de sesquiterpenos entre as épocas úmidas e secas (COSTA et al., 2009). A variabilidade na composição de óleos essenciais da espécie também variou em genótipos coletados em diferentes regiões. Plantas coletadas na cidade de Santa Helena de Goiás/Goiás (SILVA et al., 2018) apresentaram como compostos majoritários germacrona (8,52%) e  $\alpha$ -selineno (7,50%). O óleo de plantas coletadas em Crato/Ceará, foi composto principalmente de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (36,37%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (27,32%) (SANTOS et al., 2018). Plantas do estado do Maranhão, coletadas em São Luiz, apresentaram como constituinte principal curzereno (47,30%) (RODRIGUES et al., 2013).

A variação da composição química dos óleos essenciais da espécie também está associada a carga genética e a expressão gênica em diferentes tecidos, estádios fenológicos e ontogenia da planta. Costa et al. (2010) estudando a composição química de plantas com diferentes colorações de frutos, observaram diferenças entre os biotipos, totalizando três composições químicas distintas. O composto curzereno, por exemplo, variou da ausência em plantas cujos frutos eram laranjas, 20,50% em plantas cujos frutos eram amarelos e 42,60% naquelas onde os frutos eram vermelhos. Segundo Santos, Braz-filho e Castro (2015), tanto a composição entre folhas jovens e maduras quanto à porcentagem de seus compostos majoritários podem variar. Folhas jovens apresentaram maiores porcentagens de curzereno (22,37%) contra 16,60% em folhas maduras. Furanodieno e germacrona também apresentaram diferenças, o primeiro sendo ausente em folhas maduras e o segundo em folhas jovens.

Visto a alta variabilidade observada em outros trabalhos na espécie, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor e a composição química de óleos essenciais de folhas de genótipos de *E. uniflora* L. e verificar a influência da composição do óleo essencial na sua atividade antioxidante.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Material vegetal

O material vegetal foi coletado em março de 2017. Foram selecionados 36 genótipos de 11 anos de idade, pertencentes a área de plantas medicinais e aromáticas da Estação Experimental da Universidade Federal do Paraná, provenientes da germinação aleatória das sementes de quatro matrizes não rastreadas.

A estação está localizada a 25°23'30" S e 49°07'30" W e 920m de altitude. O clima da região é temperado úmido com verão temperado, apresenta precipitação anual de 1400mm, temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, sendo classificado como Cfb no sistema de classificação climática de Köppen (KÖPPEN, 1931).

### 3.2.2 Extração e análise dos óleos essenciais

Um total de 400g de folhas foram secos a temperatura ambiente durante 48 horas para a extração do óleo. Amostras de óleos essenciais foram obtidas por hidrodestilação em aparelho Clevenger por 4 horas em três repetições, cada uma com 100g de folhas em 1000 mL de água destiladas. O teor de óleo essencial foi determinado em base de massa seca, expresso em porcentagem (% m m<sup>-1</sup>).

O óleo extraído foi armazenado em freezer a -20°C até o momento da análise. Para a identificação e quantificação dos componentes dos óleos essenciais, as amostras foram diluídas em hexano a uma concentração de 1%. Uma alíquota de 1 µL desta solução foi injetada em um cromatógrafo gasoso acoplado em espectrômetro de massas (GC/MS) Shimadzu (2010 Plus), lotado no Departamento de Química da UFPR. O injetor foi manido a 250 °C. Na separação dos constituintes foi utilizado a coluna capilar HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) e gás hélio como carreador (1 mL min<sup>-1</sup>). A temperatura do forno foi programada de forma crescente de 60 a 240 °C a uma taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>. A identificação dos constituintes químicos foi obtida por comparação de seus espectros de massas com banco de dados e também dos seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de *n*-alcanos (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963) e comparado com dados da literatura (ADAMS, 2017). Na quantificação dos compostos foi utilizado um CG com detector de ionização de chamas (DIC) nas mesmas condições descritas acima, exceto pelo gás carreador utilizado, hidrogênio a 1,5 mL min<sup>-1</sup>. A composição porcentual foi obtida pela integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (%).

### 3.2.3 Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante dos óleos essenciais via radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) foi determinada conforme procedimento descrito por Brand-Willians, Cuvelier e Berset (1995). Os óleos essenciais foram diluídos em metanol na proporção 1:5 (20%) no volume final de 100 µL e adicionados a 3,9 mL de solução de DPPH em metanol (23,66 µg mL<sup>-1</sup>). A reação ocorreu no escuro e temperatura ambiente por 30 min, seguida de leitura das absorbâncias em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu®-1800, a 515 nm. Trolox

(6-hidroxi-2,5,7,8-tetramethylcromo-2-ácido carboxílico) foi usado como referência sintética. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) em  $\mu\text{M}$ .

#### 3.2.4 Análises estatísticas

Para o teor de óleo essencial e a atividade antioxidante, as variâncias foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Foi utilizado o programa estatístico ASSISTAT versão 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2016).

Para a determinação da similaridade química dos genótipos foi utilizado o método de análise de cluster hierárquica pelo software R versão 3.4.1 (R CORE TEAM, 2014) Nesta análise 15 compostos majoritários, com porcentagem superior a 5% em pelo menos um dos genótipos, foram utilizados (TABELA 3.2).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

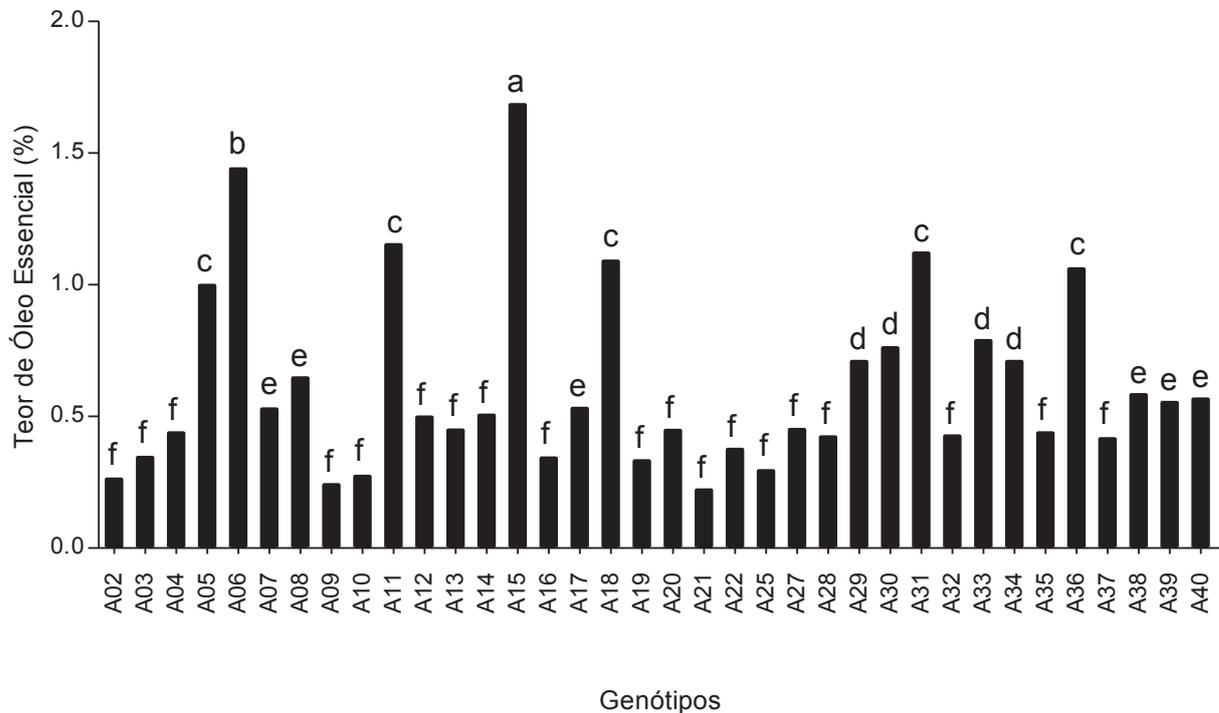
#### 3.3.1 Teor e composição de óleo essencial

Entre os genótipos de *E. uniflora* estudados, todos apresentaram óleo essencial. O teor variou de 0,22 a 1,68%, com média igual a 0,62% (FIGURA 3.1, TABELA 3.1). Teores acima de 1% em média de óleo essencial foram obtidos nos genótipos A05, A06, A11, A15, A18, A31 e A36.

O teor médio de óleo essencial foi superior a outros estudos realizados na espécie. Galhiane et al. (2006) obtiveram a partir de folhas secas um teor de óleo essencial equivalente a 0,55%. Rodrigues et al. (2013) reportaram teor de 0,30% e Silva et al. (2018) 0,51% de teor médio de óleo essencial em *E. uniflora*.

Um total de 79 compostos foram identificados nas amostras de óleos essenciais, totalizando em média 91,43% dos compostos identificados nos genótipos. A maioria dos constituintes são sesquiterpenos oxigenados (TABELA 3.1), o que também tem sido observado por outros autores (COSTA et al., 2009; GALLUCCI et al., 2010; CHANG et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013).

FIGURA 3.1 - TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE 36 GENÓTIPOS DE FOLHAS DE *E. uniflora*. COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) = 21,76%. COLUNAS COM AS MESMAS LETRAS NÃO DIFEREM ESTATÍSTICAMENTE PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT A 5% DE PROBABILIDADE.



FONTE: O Autor (2019)

TABELA 3.1 - TEORES DE ÓLEO ESSENCIAL, COMPOSTOS IDENTIFICADOS, MONOTERPENOS E MONOTERPENOS OXIGENADOS, SESQUITERPENOS E SESQUITERPENOS OXIGENADOS OBSERVADOS NOS GENÓTIPOS DE *E. uniflora* ESTUDADOS. MÉDIAS ( $\pm$  DP).

Teor de óleo essencial (%)	0,62 ( $\pm$ 0,34)
Compostos identificados (%)	91,43 ( $\pm$ 7,48)
Monoterpenos (%)	0,31 ( $\pm$ 0,76)
Monoterpenos oxigenados (%)	0,00 ( $\pm$ 0,00)
Sesquiterpenos (%)	26,05 ( $\pm$ 9,17)
Sesquiterpenos oxigenados (%)	65,38 ( $\pm$ 9,82)

FONTE: O autor (2019)

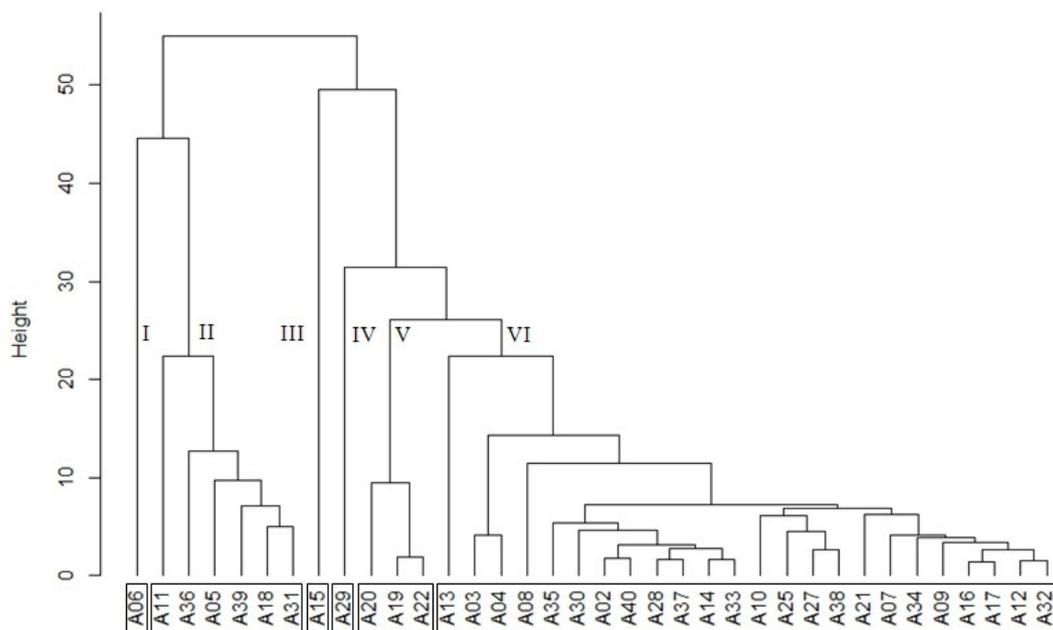
LEGENDA: DP = Desvio padrão.

Segundo Stefanello, Pascoal e Salvador (2011), compostos sesquiterpênicos, predominantes na maioria das espécies da família Myrtaceae, são responsáveis por suas propriedades biológicas. Óleos essenciais de espécies que também apresentam tais compostos como majoritários demonstram forte efeito antioxidante (THEANPHONG; MINGVANISH; KIRDMANEE, 2015). Atividades antimicrobiana e antiparasítica (LAGO et al., 2011; SOUSA et al., 2015; ARAÚJO et al., 2017; GHAZOUANI et al., 2017), ações inibitórias no crescimento de células tumorais (LIU

et al., 2013; ZHONG et al., 2016; PEREIRA et al., 2017) e efeitos antihipertensivos (KUMAR et al. 2017) também são atribuídas a esta classe de compostos.

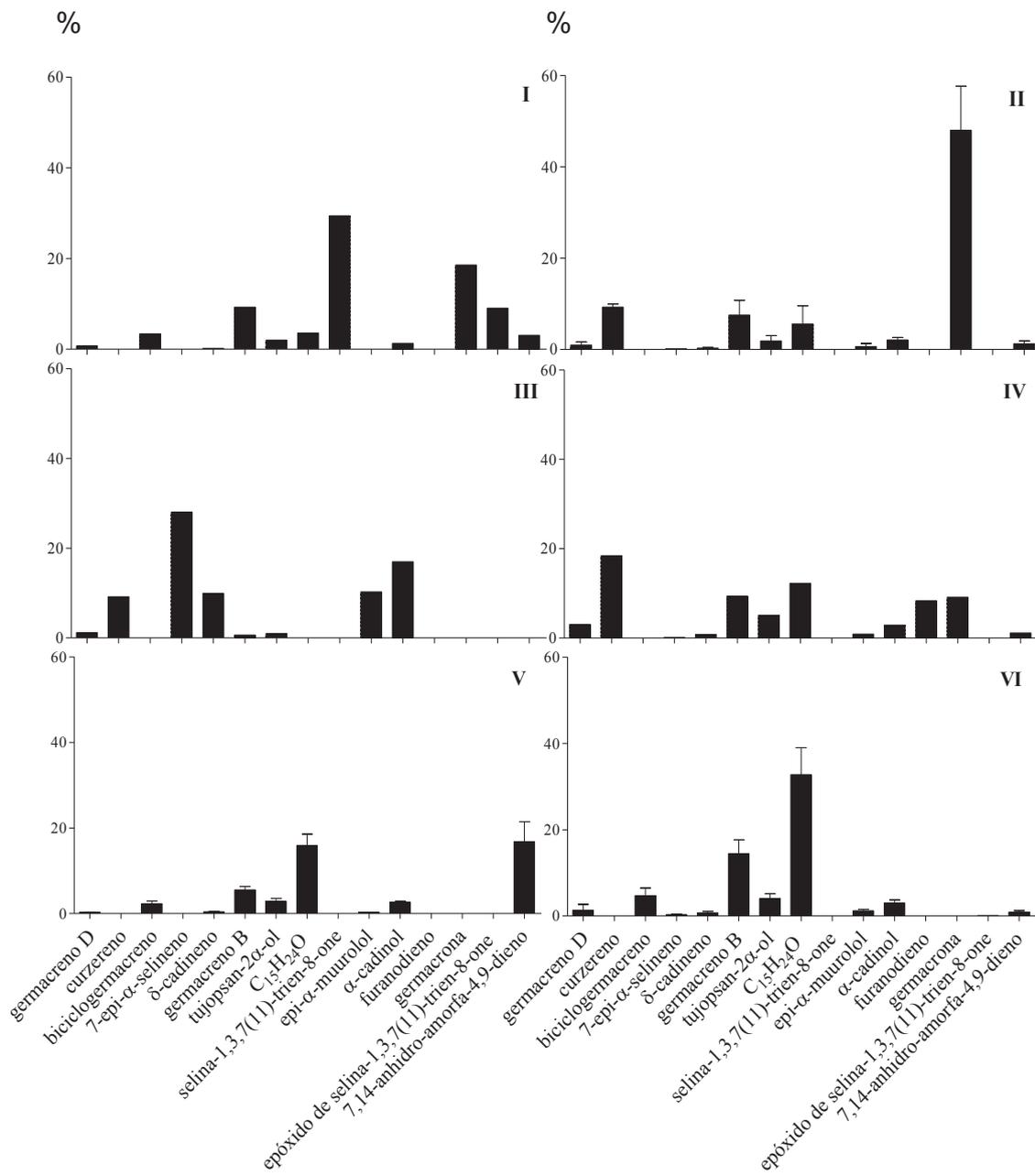
Pela análise dos óleos essenciais dos 36 genótipos pelo método de análise de clusters resultou na identificação de seis grupos associados com diferentes composições químicas (FIGURA 3.2; FIGURA 3.3).

FIGURA 3.2 - ANÁLISE DE CLUSTERS BASEADA NOS PRINCIPAIS COMPOSTOS DE ÓLEO ESSENCIAL DE 36 GENÓTIPOS DE *E. uniflora*, OBTIDA PELO MÉTODO UPGMA. CORRELAÇÃO COFENÉTICA = 95,88%.



FONTE: O autor (2019)

FIGURA 3.3 - PRINCIPAIS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DOS SEIS GRUPOS DE GENÓTIPOS DE *E. uniflora*. OS VALORES SÃO EXPRESSOS COMO MÉDIA  $\pm$  DP (DESVIO PADRÃO).



FONTE: O autor (2019)

TABELA 3.2 - VALORES MÉDIOS ( $\pm$  DP) DOS COMPOSTOS (%) UTILIZADOS COMO MARCADORES NA ANÁLISE DE CLUSTERS.

Genótipos	Compostos														
	A	B	C	D	E	F	G	H*	I	J	K	L**	M	N	O
A02	0,58 ( $\pm$ 0,11)		2,80 ( $\pm$ 0,39)		0,53 ( $\pm$ 0,01)	13,67 ( $\pm$ 1,41)	3,16 ( $\pm$ 0,31)	36,08 ( $\pm$ 3,29)			3,84 ( $\pm$ 0,13)				0,94 ( $\pm$ 0,14)
A03	0,33 ( $\pm$ 0,03)		1,39 ( $\pm$ 0,11)		0,48 ( $\pm$ 0,01)	8,43 ( $\pm$ 0,63)	2,43 ( $\pm$ 0,13)	46,13 ( $\pm$ 1,54)			3,48 ( $\pm$ 0,10)				0,37 ( $\pm$ 0,03)
A04	0,71 ( $\pm$ 0,06)		3,70 ( $\pm$ 0,30)	0,35 ( $\pm$ 0,01)	0,67 ( $\pm$ 0,01)	8,94 ( $\pm$ 0,62)	3,41 ( $\pm$ 0,06)	43,07 ( $\pm$ 1,41)			2,40 ( $\pm$ 0,12)				0,56 ( $\pm$ 0,01)
A05	0,37 ( $\pm$ 0,04)	7,95 ( $\pm$ 0,20)			0,19 ( $\pm$ 0,01)	5,44 ( $\pm$ 0,61)	0,72 ( $\pm$ 0,02)	11,39 ( $\pm$ 0,12)			1,97 ( $\pm$ 0,10)		46,52 ( $\pm$ 1,55)		0,60 ( $\pm$ 0,02)
A06	0,70 ( $\pm$ 0,02)		3,39 ( $\pm$ 0,13)		0,20 ( $\pm$ 0,03)	9,27 ( $\pm$ 0,94)	2,01 ( $\pm$ 0,32)	3,57 ( $\pm$ 1,34)	29,41 ( $\pm$ 3,15)				18,58 ( $\pm$ 0,75)	9,07 ( $\pm$ 0,44)	3,05 ( $\pm$ 0,43)
A07	3,37 ( $\pm$ 0,18)		5,59 ( $\pm$ 0,24)	0,33 ( $\pm$ 0,04)	1,26 ( $\pm$ 0,01)	13,59 ( $\pm$ 0,25)	4,42 ( $\pm$ 0,11)	29,09 ( $\pm$ 0,74)		1,06 ( $\pm$ 0,04)					0,91 ( $\pm$ 0,06)
A08	5,65 ( $\pm$ 1,65)		8,39 ( $\pm$ 2,14)	0,27 ( $\pm$ 0,03)	1,59 ( $\pm$ 0,18)	12,88 ( $\pm$ 2,94)	4,27 ( $\pm$ 0,90)	23,94 ( $\pm$ 4,29)		1,06 ( $\pm$ 0,10)					0,75 ( $\pm$ 0,09)
A09	0,82 ( $\pm$ 0,10)		5,80 ( $\pm$ 0,59)	0,41 ( $\pm$ 0,02)	0,56 ( $\pm$ 0,02)	15,69 ( $\pm$ 0,89)	5,98 ( $\pm$ 0,32)	29,26 ( $\pm$ 1,86)			2,60 ( $\pm$ 0,17)				0,74 ( $\pm$ 0,14)
A10	0,98 ( $\pm$ 0,14)		4,93 ( $\pm$ 0,60)	0,25 ( $\pm$ 0,05)	0,61 ( $\pm$ 0,04)	19,75 ( $\pm$ 1,77)	4,40 ( $\pm$ 0,29)	27,85 ( $\pm$ 1,46)		0,35 ( $\pm$ 0,03)			65,03 ( $\pm$ 0,20)		1,33 ( $\pm$ 0,41)
A11	0,50 ( $\pm$ 0,07)	9,21 ( $\pm$ 0,25)			0,16 ( $\pm$ 0,03)	2,18 ( $\pm$ 0,27)	0,89 ( $\pm$ 0,08)	1,46 ( $\pm$ 0,13)			2,14 ( $\pm$ 0,14)				0,68 ( $\pm$ 0,09)
A12	0,90 ( $\pm$ 0,02)		6,25 ( $\pm$ 0,14)	0,29 ( $\pm$ 0,01)	0,63 ( $\pm$ 0,01)	12,74 ( $\pm$ 0,45)	5,79 ( $\pm$ 0,11)	30,42 ( $\pm$ 0,96)			2,85 ( $\pm$ 0,09)				0,69 ( $\pm$ 0,04)
A13	4,41 ( $\pm$ 0,12)		7,17 ( $\pm$ 0,08)		1,58 ( $\pm$ 0,02)	22,71 ( $\pm$ 0,75)	4,93 ( $\pm$ 0,18)	13,60 ( $\pm$ 0,66)		1,59 ( $\pm$ 0,08)	3,47 ( $\pm$ 0,17)			0,12 ( $\pm$ 0,01)	0,69 ( $\pm$ 0,04)
A14	0,78 ( $\pm$ 0,09)		4,41 ( $\pm$ 0,50)		0,55 ( $\pm$ 0,04)	15,16 ( $\pm$ 1,11)	4,28 ( $\pm$ 0,14)	36,38 ( $\pm$ 1,24)			2,99 ( $\pm$ 0,25)				
A15	1,19 ( $\pm$ 0,31)	9,18 ( $\pm$ 0,18)		28,00 ( $\pm$ 0,85)	9,90 ( $\pm$ 1,56)	0,64 ( $\pm$ 0,01)	1,00 ( $\pm$ 0,05)	1,00 ( $\pm$ 0,05)		10,25 ( $\pm$ 0,28)	16,98 ( $\pm$ 0,54)				
A16	0,79 ( $\pm$ 0,03)		5,40 ( $\pm$ 0,38)		0,56 ( $\pm$ 0,02)	14,28 ( $\pm$ 0,69)	4,56 ( $\pm$ 0,02)	31,30 ( $\pm$ 0,19)			2,93 ( $\pm$ 0,13)				1,05 ( $\pm$ 0,12)
A17	0,75 ( $\pm$ 0,07)		5,25 ( $\pm$ 0,46)	0,51 ( $\pm$ 0,03)	0,51 ( $\pm$ 0,02)	13,57 ( $\pm$ 0,81)	4,43 ( $\pm$ 0,18)	30,76 ( $\pm$ 0,84)			2,61 ( $\pm$ 0,12)				1,97 ( $\pm$ 0,21)
A18	0,87 ( $\pm$ 0,05)	9,63 ( $\pm$ 0,63)			0,26 ( $\pm$ 0,03)	9,01 ( $\pm$ 0,82)	2,19 ( $\pm$ 0,13)	3,83 ( $\pm$ 0,50)		0,28 ( $\pm$ 0,02)	1,30 ( $\pm$ 0,10)		51,01 ( $\pm$ 1,89)		1,60 ( $\pm$ 0,13)
A19	0,38 ( $\pm$ 0,08)		2,10 ( $\pm$ 0,57)		0,41 ( $\pm$ 0,09)	6,36 ( $\pm$ 1,18)	2,65 ( $\pm$ 0,67)	17,57 ( $\pm$ 0,67)			2,94 ( $\pm$ 0,04)				13,65 ( $\pm$ 3,78)
A20	0,50 ( $\pm$ 0,12)		1,81 ( $\pm$ 0,42)		0,32 ( $\pm$ 0,07)	4,77 ( $\pm$ 1,22)	2,19 ( $\pm$ 0,22)	12,78 ( $\pm$ 0,45)		0,28 ( $\pm$ 0,08)	2,36 ( $\pm$ 0,16)				22,16 ( $\pm$ 5,12)
A21	2,67 ( $\pm$ 0,18)		2,44 ( $\pm$ 0,10)		1,31 ( $\pm$ 0,06)	11,79 ( $\pm$ 0,47)	3,21 ( $\pm$ 0,17)	28,77 ( $\pm$ 0,24)		1,59 ( $\pm$ 0,13)	5,05 ( $\pm$ 0,25)				0,89 ( $\pm$ 0,25)

(continua)

TABELA 3.2 - VALORES MÉDIOS ( $\pm$  DP) DOS COMPOSTOS (%) UTILIZADOS COMO MARCADORES NA ANÁLISE DE CLUSTERS.

Genótipos	Compostos														O
	A	B	C	D	E	F	G	H*	I	J	K	L**	M	N	
A22	0,57 ( $\pm$ 0,05)		3,02 ( $\pm$ 0,17)		0,51 ( $\pm$ 0,03)	5,51 ( $\pm$ 0,26)	3,63 ( $\pm$ 0,03)	17,25 ( $\pm$ 0,68)			2,57 ( $\pm$ 0,08)				14,62 ( $\pm$ 1,15)
A25	2,81 ( $\pm$ 0,28)		2,10 ( $\pm$ 0,11)	0,15 ( $\pm$ 0,01)	1,22 ( $\pm$ 0,05)	17,80 ( $\pm$ 0,35)	1,90 ( $\pm$ 0,01)	30,34 ( $\pm$ 1,20)		1,19 ( $\pm$ 0,05)	4,64 ( $\pm$ 0,23)				0,62 ( $\pm$ 0,04)
A27	0,84 ( $\pm$ 0,08)		3,84 ( $\pm$ 0,26)	0,41 ( $\pm$ 0,01)	0,61 ( $\pm$ 0,03)	18,44 ( $\pm$ 0,85)	2,55 ( $\pm$ 0,11)	33,93 ( $\pm$ 1,22)			2,79 ( $\pm$ 0,15)				0,35 ( $\pm$ 0,01)
A28	0,73 ( $\pm$ 0,11)		4,88 ( $\pm$ 0,60)	0,47 ( $\pm$ 0,01)	0,56 ( $\pm$ 0,04)	13,61 ( $\pm$ 0,76)	4,76 ( $\pm$ 0,14)	33,84 ( $\pm$ 0,17)			2,81 ( $\pm$ 0,18)				0,82 ( $\pm$ 0,07)
A29	3,04 ( $\pm$ 0,04)	18,45 ( $\pm$ 0,35)		0,11 ( $\pm$ 0,01)	0,80 ( $\pm$ 0,02)	9,40 ( $\pm$ 0,65)	5,10 ( $\pm$ 0,34)	12,22 ( $\pm$ 0,81)		0,87 ( $\pm$ 0,06)	2,89 ( $\pm$ 0,12)	8,36 ( $\pm$ 0,55)	9,15 ( $\pm$ 0,39)		1,13 ( $\pm$ 0,02)
A30	0,54 ( $\pm$ 0,03)		2,90 ( $\pm$ 0,17)	0,22 ( $\pm$ 0,02)	0,48 ( $\pm$ 0,01)	16,89 ( $\pm$ 1,12)	2,83 ( $\pm$ 0,06)	38,13 ( $\pm$ 1,72)		0,31 ( $\pm$ 0,03)	2,69 ( $\pm$ 0,04)		46,27 ( $\pm$ 0,45)		1,30 ( $\pm$ 0,05)
A31	0,93 ( $\pm$ 0,07)	10,05 ( $\pm$ 0,27)			0,27 ( $\pm$ 0,03)	8,54 ( $\pm$ 0,40)	1,98 ( $\pm$ 0,09)	3,04 ( $\pm$ 0,03)							2,25 ( $\pm$ 0,25)
A32	1,06 ( $\pm$ 0,17)		7,36 ( $\pm$ 1,03)	0,35 ( $\pm$ 0,01)	0,63 ( $\pm$ 0,03)	13,24 ( $\pm$ 1,07)	5,97 ( $\pm$ 0,42)	31,08 ( $\pm$ 1,02)			2,32 ( $\pm$ 0,19)				0,80 ( $\pm$ 0,06)
A33	1,07 ( $\pm$ 0,08)		5,57 ( $\pm$ 0,23)	0,27 ( $\pm$ 0,01)	0,63 ( $\pm$ 0,03)	15,09 ( $\pm$ 0,22)	3,61 ( $\pm$ 0,14)	36,50 ( $\pm$ 0,41)			2,40 ( $\pm$ 0,06)				0,73 ( $\pm$ 0,08)
A34	1,15 ( $\pm$ 0,04)		7,37 ( $\pm$ 0,25)	0,34 ( $\pm$ 0,01)	0,67 ( $\pm$ 0,02)	15,86 ( $\pm$ 0,10)	4,57 ( $\pm$ 0,08)	32,77 ( $\pm$ 0,14)		0,72 ( $\pm$ 0,02)	2,32 ( $\pm$ 0,08)				0,83 ( $\pm$ 0,01)
A35	0,70 ( $\pm$ 0,02)		4,85 ( $\pm$ 0,39)	0,34 ( $\pm$ 0,01)	0,60 ( $\pm$ 0,01)	10,90 ( $\pm$ 0,38)	5,78 ( $\pm$ 0,05)	38,49 ( $\pm$ 2,45)			2,52 ( $\pm$ 0,09)				1,18 ( $\pm$ 0,08)
A36	0,93 ( $\pm$ 0,06)	9,84 ( $\pm$ 0,23)		0,17 ( $\pm$ 0,02)	0,32 ( $\pm$ 0,05)	11,36 ( $\pm$ 0,43)	1,62 ( $\pm$ 0,19)	9,79 ( $\pm$ 1,11)			2,32 ( $\pm$ 0,09)		36,28 ( $\pm$ 1,23)		1,10 ( $\pm$ 0,43)
A37	0,76 ( $\pm$ 0,15)		4,44 ( $\pm$ 0,79)	0,55 ( $\pm$ 0,06)	0,68 ( $\pm$ 0,10)	14,07 ( $\pm$ 2,88)	3,77 ( $\pm$ 0,35)	34,97 ( $\pm$ 3,79)			2,65 ( $\pm$ 0,11)				0,83 ( $\pm$ 0,06)
A38	0,52 ( $\pm$ 0,05)		2,81 ( $\pm$ 0,23)	0,15 ( $\pm$ 0,01)	0,44 ( $\pm$ 0,02)	16,99 ( $\pm$ 0,73)	2,61 ( $\pm$ 0,08)	32,50 ( $\pm$ 0,61)			3,24 ( $\pm$ 0,14)				1,55 ( $\pm$ 0,04)
A39	2,26 ( $\pm$ 0,60)	8,87 ( $\pm$ 2,02)			0,58 ( $\pm$ 0,16)	8,59 ( $\pm$ 2,37)	3,88 ( $\pm$ 0,54)	3,83 ( $\pm$ 0,25)		1,67 ( $\pm$ 0,14)	2,75 ( $\pm$ 0,36)		42,90 ( $\pm$ 8,32)		0,66 ( $\pm$ 0,13)
A40	0,66 ( $\pm$ 0,24)		3,49 ( $\pm$ 1,17)		0,61 ( $\pm$ 0,10)	12,33 ( $\pm$ 3,41)	3,07 ( $\pm$ 0,45)	35,32 ( $\pm$ 4,21)			3,24 ( $\pm$ 0,39)				0,75 ( $\pm$ 0,05)

FONTE: O autor (2019)

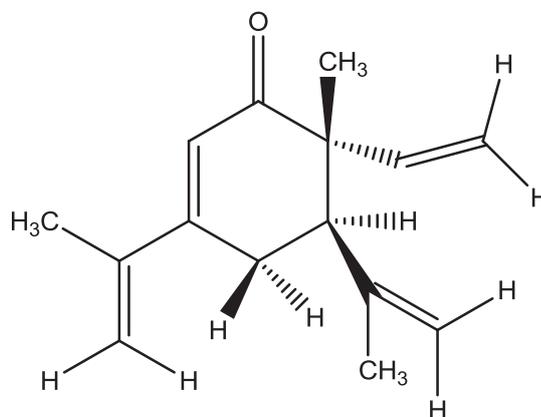
LEGENDA: **A** germacreno D (IR = 1484); **B** curzereno (IR = 1499); **C** bicyclogermacreno (IR = 1500); **D** 7-*epi*- $\alpha$ -selineno (IR = 1520); **E**  $\delta$ -cadineno (IR = 1522); **F** germacreno B (IR = 1559); **G** thusopsan-2 $\alpha$ -ol (IR = 1586); **H** C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O (IR = 1592\*\*\*); **I** selina-1,3,7(11)-trien-8-one (IR = 1632); **J** *epi*- $\alpha$ -muurolol (IR = 1640); **K**  $\alpha$ -cadinol (IR = 1652); **L** furanodieno (IR = 1699\*\*\*); **M** germacrona (IR = 1693); **N** epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (IR = 1746); **O** 7,14-anhidro-amorfa-4,9-dieno (IR = 1746). IR = Índice de retenção (ADAMS, 2017); \* Identificação Sciarrone et al. (2019); \*\* Identificação de acordo com Santos, Braz-filho e Castro, 2015); \*\*\*Índice de retenção calculado.

Os padrões I, III e IV são compostos por apenas um genótipo cada. No grupo I foram identificados como compostos majoritários germacreno B (9,27%), selina-1,3,7(11)-trien-8-one (29,41%), germacrona (18,58%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one (9,07%). No grupo III destacaram-se os compostos curzereno (9,18%), 7-*epi*- $\alpha$ -selineno (28,00%),  $\delta$ -cadineno (9,90%), *epi*- $\alpha$ -muurolol (10,25%) e  $\alpha$ -cadinol (16,98%). Os compostos majoritários curzereno (18,45%), germacreno B (9,40%), C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O (12,22%), germacrona (9,15%) e furanodieno (8,36%) foram identificados no grupo IV.

O grupo II consiste de seis genótipos com curzereno (7,95 – 10,05%), germacreno B (2,18 – 11,36%), C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O (1,46 – 11,39%) e germacrona (36,28 – 65,03%). Três genótipos representam o grupo V com germacreno B (4,77 – 6,36%), C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O (12,78 – 17,57%) e 7,14-anhidro-amorfa-4,9-dieno (13,65 – 22,16%) como os constituintes majoritários. Um total de 24 genótipos foram incluídos no grupo VI. Os compostos majoritários deste grupo foram bicilogermacreno (1,39 – 8,39%), germacreno B (8,43 – 22,71%) and C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O (13,60 – 46,13%).

O sesquiterpeno oxigenado C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O (composto H - TABELA 3.2) foi a primeira vez descrito na natureza. Sua estrutura química foi determinada por cromatografia gasosa multidimensional seguida por ressonância magnética nuclear (RMN) e nominado como 6-etenil-6-metil-3,5-di(prop-1-en-2-il)cicloexen-2-1-ona (SCIARRONE et al., 2019). A estrutura desta molécula é apresentada na Figura 3.4.

FIGURA 3.4 - ESTRUTURA QUÍMICA DE 6-ETENIL-6-METIL-3,5-DI(PROP-1-EN-2-IL)CICLOEXEN-2-1-ONA, SESQUITERPENO OXIGENADO PELA PRIMEIRA VEZ DESCRITO, IDENTIFICADO EM ÓLEO ESSENCIAL DE *E. uniflora*.



FONTE: SCIARRONE et al. (2019)

Esta variabilidade no teor e na composição dos óleos essenciais observada pode ser influenciada por mudanças ambientais que podem alterar rotas biossintéticas de compostos terpênicos (VERNA; SHUKLA, 2015). Porém, plantas submetidas às mesmas condições ambientais, conforme utilizadas neste trabalho, diferenciam-se devido as suas características genéticas.

A variabilidade no teor e na composição dos óleos essenciais observada nos genótipos pode estar relacionada à forma preferencial de reprodução da espécie. Segundo Silva e Pinheiro (2007), *E. uniflora* apresenta reprodução sexual intermediária, ou seja, pode ocorrer tanto autofecundação quando fecundação cruzada, sendo a alogamia seu principal modo de reprodução, que é facilitada pelo seu principal agente polinizador, *Apis mellifera* (DINIZ; BUSCHINI, 2016). Assim, a troca de material genético promove a variabilidade genética da espécie.

### 3.3.2 Atividade antioxidante

Os óleos essenciais isolados de todos os 36 genótipos de *E. uniflora* foram positivos para atividade antioxidante pelo método de inibição do DPPH (TABELA 3.3), com variação de 176,66 a 867,57  $\mu\text{M}$  TEAC. Os genótipos A05, A11 e A29, atingiram valores acima de 800,00  $\mu\text{M}$  TEAC, estatisticamente maiores que os outros genótipos. Os três genótipos continham como compostos majoritários curzereno, furanodieno e germacrona. Estudos com espécies do gênero *Curcuma* (Zingiberaceae) demonstraram que cada composto isolado de seus óleos essenciais apresentaram forte atividade antioxidante (ZHAO et al., 2010; HAMDÍ et al., 2015).

No entanto, genótipos com germacrona e curzereno como compostos principais no óleo essencial (A18, A31 e A39) não possuem a mesma performance de inibição do radical livre DPPH.

Nos genótipos onde foram observados somente curzereno (A15) ou germacrona (A06) também houve pequeno efeito sobre o radical livre. Nestes genótipos, outros compostos foram identificados, não observados e/ou possuíam baixas porcentagens nos óleos essenciais com alta ação antioxidante, como selina-1,3,7(11)-trien-8-one (A06) e 7-*epi*- $\alpha$ -selineno (A15).

Segundo Wang et al. (2008), é difícil atribuir efeito antioxidante a um ou a poucos compostos presentes nos óleos essenciais. Óleos essenciais são considerados uma mistura complexa de compostos químicos e, portanto, a interação

entre eles, incluindo os compostos minoritários, pode influenciar seus efeitos (BOTELHO et al., 2007), demonstrando que as interações entre todos os compostos presentes no óleo são fundamentais para sequestro do radical livre DPPH.

TABELA 3.3 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE FOLHAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *E. uniflora* PELO MÉTODO DPPH.

Genótipos	TEAC ± dp (µM)	Genótipos	TEAC ± dp (µM)
A02	679,69 ± 54,55 <sup>d</sup>	A20	464,54 ± 60,53 <sup>f</sup>
A03	516,05 ± 72,73 <sup>f</sup>	A21	655,45 ± 41,99 <sup>d</sup>
A04	461,51 ± 54,55 <sup>f</sup>	A22	552,42 ± 48,10 <sup>e</sup>
A05	867,57 ± 20,99 <sup>a</sup>	A25	509,99 ± 20,99 <sup>f</sup>
A06	231,21 ± 27,77 <sup>g</sup>	A27	491,81 ± 20,99 <sup>f</sup>
A07	582,72 ± 20,99 <sup>e</sup>	A28	643,33 ± 72,73 <sup>d</sup>
A08	576,66 ± 45,76 <sup>e</sup>	A29	843,33 ± 26,76 <sup>a</sup>
A09	606,96 ± 65,66 <sup>e</sup>	A30	503,93 ± 63,85 <sup>f</sup>
A10	576,66 ± 41,99 <sup>e</sup>	A31	546,36 ± 75,70 <sup>e</sup>
A11	861,51 ± 26,96 <sup>a</sup>	A32	716,05 ± 62,98 <sup>c</sup>
A12	764,54 ± 27,77 <sup>b</sup>	A33	697,87 ± 18,18 <sup>c</sup>
A13	643,33 ± 65,56 <sup>d</sup>	A34	570,60 ± 36,36 <sup>e</sup>
A14	497,87 ± 5,33 <sup>f</sup>	A35	655,45 ± 63,85 <sup>d</sup>
A15	176,66 ± 41,99 <sup>g</sup>	A36	588,78 ± 72,73 <sup>e</sup>
A16	643,33 ± 48,10 <sup>d</sup>	A37	740,30 ± 55,55 <sup>c</sup>
A17	734,24 ± 18,18 <sup>c</sup>	A38	516,05 ± 48,10 <sup>f</sup>
A18	522,12 ± 10,50 <sup>f</sup>	A39	782,72 ± 27,77 <sup>b</sup>
A19	709,99 ± 45,76 <sup>c</sup>	A40	464,54 ± 60,53 <sup>f</sup>

FONTE: O autor (2019)

NOTA: Valores expressos em TEAC (Capacidade antioxidante equivalente a Trolox) ± dp (desvio padrão) em µM. As letras semelhantes não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV) = 8,27%.

### 3.4 CONCLUSÕES

- É observada nos genótipos de *E. uniflora* grande variabilidade no teor e na composição de óleo essencial de suas folhas;
- Seis grupos são identificados de acordo a composição química, sendo selina-1,3,7(11)-trien-8-one, epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one, curzereno, germacrona, 7-*epi*- $\alpha$ -selineno, furanodieno, 7,14-anhidro-amorfa-4,(7)-dieno e 6-etenil-6-metil-3,5-di(prop-1-en-2-il)cicloexen-2-1-ona os compostos principais que influenciam na separação dos grupos;
- Maioria dos compostos dos óleos essenciais identificados em *E. uniflora*, no presente trabalho, são sesquiterpenos;

- A atividade antioxidante é influenciada pela composição dos óleos essenciais estudados;
- As diferenças na atividade antioxidante entre os 36 genótipos é decorrente da interação sinérgica ou antagônica dos compostos presentes nos seus óleos essenciais;
- A variabilidade da composição dos óleos essenciais e a amplitude no efeito antioxidante reforça a necessidade no controle de qualidade dos óleos usados nas indústrias farmacêutica e cosmética.

## REFERÊNCIAS

ADAMS R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4.1 ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2017.

AMSTRONG, L.; DUARTE, M. R.; MIGUEL, O. G. Morpho-anatomy of the leaf and stem of *Eugenia pyriformis*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 22, n. 3, p. 475-481, 2012.

ARAÚJO, F. M.; DANTAS, M. C. S. M.; SILVA, L. S.; AONA, L. Y. S.; TAVARES, I. F.; SOUZA-NETA, L. C. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. **Ind. Crops Prod.**, v. 105, p. 203-206, 2017.

BOMBOA, A.B.; FILARTIGA, A. L.; GARCIA, V. L.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Secretory structures in *Aldama* species (Heliantheae–Asteraceae): morphology, histochemistry and composition of essential oils. **Flora**, v. 228, p. 39-49, 2017.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. G. C.; LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH RAO, V. S.; BRITO, G. A. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 40, p. 349-356, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technol.**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CHANG, R.; MORAIS, S. A. L.; DUARTE, K. C.; GUZMAN, V. B.; NASCIMENTO, E. A. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 21, n. 3, p. 392-396, 2011.

COSTA, D. P.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; SANTOS, S. C.; PASSOS, X. S.; SILVA, M. R. R.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 5, p. 851-858, 2010.

COSTA, D. P.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **J. Brazil. Chem. Soc.**, v. 20, n. 7, p. 1287-1293, 2009.

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

GALHIANE, M. S.; RISSATO, S. R.; CHIERICE, G. O.; ALMEIDA, M. V.; SILVA, L. C. Influence of different extraction methods on the yield and linalool content of the extracts of *Eugenia uniflora* L. **Talanta**, v. 70, p. 286-292, 2006.

GALLUCCI, S.; PLACERES-NETO, A.; PORTO, C.; BARNIZAN, D.; COSTA, I.; MARQUES, K.; BENEVIDES, P.; FIGUEIREDO, R. Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: an industrial perfumery approach. **J. Essent. Oil Res.**, v. 22, p. 176-179, 2010.

GHAZOUANI, N.; SIFAOU, I.; BACHROUCH, O.; ABDERRABBA, M.; PINERO, J. E.; LORENZO-MORALES, J. Essential oil composition and anti *Acanthamoeba* studies of *Teucrium ramosissimum*. **Exp. Parasitol.**, v. 183, p. 207-211, 2017,

HAMDI, O. A. A.; YE, L. J.; KAMARUDIN, M. N. A.; HAZNI, H.; PAYDAR, M.; LOOI, C. Y.; SHILPI, J. A.; KADIR, H. A.; AWANG, K. Neuroprotective and antioxidant constituents from *Curcuma zedoaria* rhizomes. **Rec. Nat. Prod.**, v. 9, n. 3, p. 349-355, 2015.

KÖPPEN, W. **Grundriss Der Klimakunde**. Berlin: W. Guyter, 1931. 390p.

KUMAR, A. S.; JEYAPRAKASH, K.; CHELLAPPAN, D. R.; MURUGAN, R. Vasorelaxant and cardiovascular properties of the essential oil of *Pogostemon elsholtzioides*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 199, p. 86-90, 2017.

LAGO, J. H. G.; SOUZA, E. D.; MARIANE, B.; PASCON, R.; VALLIM, M. A.; MARTINS, R. C. C.; BAROLI, A. A.; CARVALHO, B. A.; SOARES, M. G.; SANTOS, R. T.; SARTORELLI, P. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae — *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, v. 16, p. 9827-9837, 2011.

LIU, Y.; WANG, W.; FANG, B.; MA, F.; ZHENG, Q.; DENG, P.; ZHAO, S.; CHEN, M.; YANG, G.; HE, G. Anti-tumor effect of germacrone on human hepatoma cell lines through inducing G2/M cell cycle arrest and promoting apoptosis. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 698, p. 95-102, 2013.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **Int. J. Aromather.**, v. 15, p. 147-152, 2005.

OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chem.**, v. 99, p. 1-5, 2006.

PACHECO-SILVA, N. V.; DONATO, A. M. Morpho-anatomy of the leaf of *Myrciaria glomerata*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 26, p. 275-280, 2016.

PEREIRA, C. B.; KANUNFRE, C. C.; FARAGO, P. V.; BORSATO, D. M.; BUDEL, J. M.; MAIA, B. H. L. N. S.; CAMPESATTO, E. A.; SARTORATTO, A.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Cytotoxic mechanism of *Baccharis milleflora* (Less.) DC. essential oil. **Toxicol. in Vitro**, v. 42, p. 214-221, 2017.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014.

RETAMALES, H. A.; SCHARASCHKINA, T. Comparative leaf anatomy and micromorphology of the Chilean Myrtaceae: Taxonomic and ecological implications. **Flora**, v. 217, p. 138-154, 2015.

REZENDE, W.P.; BORGES, L. L.; ALVES, N. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Chemical variability in the essential oils from leaves of *Syzygium jambos*. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 23, n. 3, p. 433-440, 2013.

RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. V.; OLIVEIRA, J. M. G.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-*Leishmania* agent: effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanisms of action. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, p. 1-10, 2013.

SANTOS, F. R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R. N. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Quím. Nova**, v. 38, n. 6, p. 762-768, 2015.

SANTOS, J. F. S.; ROCHA, J. E.; BEZERRA, C. F.; SILVA, M. K. N.; MATOS, Y. M. L. S.; FREITAS, T. S.; SANTOS, A. T. L.; CRUZ, R. P.; MACHADO, A. J. T.; RODRIGUES, T. H. S.; BRITO, E. S.; SALES, D. L. S.; ALMEIDA, W. O.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; BRAGA-MORAIS, M. F. B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chem.**, v. 261, p. 233-239, 2018.

SCIARRONE, D.; SCHEPIS, A.; GRAZIA GEMA, ROTONDO, A. ALIBRANDO, F.; CIPRIANO, R. R.; BIZZO, H.; DESCHAMPS, C.; SIDISKY, L. M.; MONDELLO, L. Collection and identification of an unknown component from *Eugenia uniflora* essential oil exploiting a multidimensional preparative three-GC system employing apolar, mid-polar and ionic liquid stationary phases. **Faraday Discuss.**, v. 218, p. 101-114. 2019.

SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. C. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Bot. Bras.**, v. 21, n. 1, p. 235-247, 2007.

SILVA, F. A. Z.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res.**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

SILVA, V. P.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D.; BRETANHA, L. C.; BALLESTE, M. P.; MICKE, G. A.; SILVEIRA, E. V.; MARTINS, C. H. G.; AMBROSIO, M. A. L.; SILVA, T. S.; TAVARES, D. C.; MAGALHÃES, L. G.; SILVA, F. G.; EGEA, M. B. Chemical composition and *in vitro* leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. **Ind. Crops Prod.**, v. 123, p. 638-645, 2018.

SOUSA, R. M. F.; MORAIS, S. A. L.; VIEIRA, R. B. K.; NAPOLITANO, D. R.; GUZMANB, V. B.; MORAES, T. S.; CUNHA, L. C. S.; MARTINS, C. H. G.; CHANGA, R.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, E. A.; OLIVEIRA, A. Chemical composition, cytotoxic, and antibacterial activity of the essential oil from *Eugenia calycina* Cambess. leaves against oral bacteria. **Ind. Crops Prod.**, v. 65, p. 71-78, 2015.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from Neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chem. Biodivers.**, v. 8, p. 73-94, 2011.

STESEVIC, D.; BOZOVIC, M.; TADIC, V.; RANCIC, D.; SREVANOVIC, D. Z. Plant-part anatomy related composition of essential oils and phenolic compounds in *Chaerophyllum coloratum*, a Balkan endemic species. **Flora**, v. 220, p. 37-51, 2016.

THADEO, M.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras da folha de *Casearia decandra* Jacq. (Salicaceae). **Rev. Brasil. Bot.**, v. 32, n. 2, p. 329-338, 2009.

THEANPHOG, O.; MINGVANISH, W.; KIRDMANEE, C. Chemical constituents and activities of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome. **Bull. Health Sci. Technol.**, v. 13, n. 1, p. 6-16, 2015.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalisation of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VERNA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants**, v. 2, p. 105-136, 2015.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SILVA, W. P.; MOTTA, A. S.; NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chem. Toxicol.**, v. 50, p. 2668-2674, 2012.

WANG, W.; WU, N.; ZU, Y. G.; FU, Y. J. Antioxidative Activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil to its main components. **Food Chem.**, v. 108, p. 1019-1022, 2008.

ZHAO, J.; ZHANG, J.; YANG, B.; LV, G. P.; LI, S. Free radical scavenging activity and characterization of sesquiterpenoids in four species of *Curcuma* using a TLC bioautography assay and GC-MS analysis. **Molecules**, v. 15, p. 7547-7557, 2010.

ZHONG, Z. F.; QIANG, W. A.; WANG, C. M.; TAN, W.; WANG, Y. T. Furanodiene enhances the anti-cancer effects of doxorubicin on ER $\alpha$ -negative breast cancer cells in vitro. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 774, p. 10-19, 2016.

TABELA 3.4 - MATERIAL SUPLEMENTAR: COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE GENÓTIPOS DE *Eugenia uniflora*.

COMPOSTOS	IR	GENÓTIPOS																	(continua)	
		A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18		A19
<b>Monoterpenos</b>		<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,82</b>	<b>0,00</b>	<b>0,12</b>	<b>1,08</b>	<b>0,00</b>	<b>0,29</b>	<b>0,00</b>	<b>2,68</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>2,35</b>	<b>0,00</b>	
Limoneno	1024						0,12													
(Z)- $\beta$ -ocimeno	1032					0,33							0,91							1,03
(E)- $\beta$ -ocimeno	1044					0,49			1,08		0,29		1,78							1,32
<b>Sesquiterpenos</b>		<b>25,04</b>	<b>16,41</b>	<b>21,43</b>	<b>10,71</b>	<b>18,78</b>	<b>32,5</b>	<b>37,68</b>	<b>31,52</b>	<b>36,08</b>	<b>5,66</b>	<b>28,31</b>	<b>45,63</b>	<b>29,02</b>	<b>45,64</b>	<b>29,17</b>	<b>27,95</b>	<b>15,53</b>	<b>17,14</b>	
$\delta$ -elemeno	1335	0,21	0,17	0,14	0,23	0,28	0,34	0,22	0,22	0,23	0,16	0,25	0,31	0,20	0,24	0,24	0,24	0,35	0,12	
$\alpha$ -copaeno	1374						0,11													
$\beta$ -elemeno	1389	1,89	1,37	1,65	1,21	0,98	1,47	1,68	1,22	1,35	0,89	1,35	1,14	1,62	1,77	1,56	1,17	1,36		
$\alpha$ -gurjuneno	1409																			
(E)-cariofilleno	1417				0,31	0,28	0,39	0,42	0,32	0,38		0,35	0,64					0,43	0,45	0,28
$\gamma$ -elemeno	1434	2,21	1,23	1,34	0,80	1,30	1,99	1,95	2,24	2,96	0,30	1,94	3,41	2,19	2,22	2,08	1,36	0,98		
Aromadendreno	1439			0,14			0,19	0,25	0,26	0,22		0,24	0,16	0,14	0,21	0,15	0,15	0,10		
$\alpha$ -humuleno	1452						0,14	0,20				0,16								
<i>allo</i> -aromadendreno	1458	0,20	0,21	0,52		0,17	0,39	0,66	0,56	0,43		0,62	0,46	0,43	1,03	0,54	0,40	0,30	0,23	
<i>trans</i> -cadina-1(6),4-dieno	1475											0,20			0,36					
$\beta$ -chamicreno	1476	0,35	0,36	0,37	0,16	0,34	0,41	0,63	0,39	0,41		0,36	0,35	0,35	0,53	0,39	0,28	0,14	0,31	
Germacreno D	1484	0,58	0,33	0,71	0,37	0,70	3,37	5,65	0,82	0,98	0,50	0,90	4,41	0,78	1,19	0,79	0,75	0,87	0,38	
$\beta$ -selineno	1489	0,39	0,39	0,27	0,13	0,24	0,25	0,15	0,26	0,30	0,10	0,23	0,16	0,29	0,16	0,32	0,21	0,38		
Viridifloreno	1496				0,77								0,13		0,25					
$\alpha$ -selineno	1498										0,87									
Bicyclogermacreno	1500	2,80	1,39	3,70		3,39	5,59	8,39	5,80	4,93		6,25	7,17	4,41	5,40	5,25			2,10	
$\alpha$ -muuroleno	1500						0,64							1,33	1,82					
Germacreno A	1508	0,84	1,11	1,57	0,50	0,48	0,50	1,08	0,87	0,96	0,31	0,65	0,25	0,20	0,80	0,87	0,63	0,63		
$\delta$ -amorfenô	1511						0,25	0,31	0,22	0,20		0,28	0,38		0,23	0,18	0,14	0,11		
$\gamma$ -cadineno	1513	0,13	0,11	0,24			0,18						0,21							
(Z)- $\gamma$ -bisaboleno	1514				0,22	0,34												0,10	1,22	
Nootkateno	1517					0,12												0,19	0,90	
7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno	1520			0,35			0,33	0,27	0,41	0,25		0,29			28,00		0,51			
$\delta$ -cadineno	1522	0,53	0,48	0,67	0,19	0,20	1,26	1,59	0,56	0,61	0,16	0,63	1,58	0,55	0,56	0,51	0,26	0,41		
Zonareno	1528	0,41	0,30	0,29	0,13	0,15	0,41	0,35	0,49	0,60	0,39	0,50	0,39	0,39	0,45	0,33	0,17	0,26		
$\alpha$ -cadineno	1537		0,70	0,50			0,87	0,66	1,19	1,52	0,19	0,84	1,30	0,87	0,34	0,97	0,63	0,43	1,01	
Selina-3,7(11)-dieno	1545	0,83			0,34	0,48		0,11						0,11	0,33					
Germacreno B	1559	13,67	8,43	8,94	5,44	9,27	13,59	12,88	15,69	19,75	2,18	12,74	22,71	15,16	14,28	13,57	9,01	6,36		
$\beta$ -calacoreno	1564														0,15					

(continua)

Sesquiterpenos oxigenados		64,39	70,39	65,96	79,65	74,85	59,68	53,79	57,76	56,13	90,45	61,98	43,25	60,88	52,34	60,29	63,12	64,39	70,39	
	Curzereno	1499			7,95						9,21				9,18			9,63		
	Occidentalol	1550																		0,60
	(E)-nerolidol	1561	0,86	0,61	0,92	0,45	0,60	1,25	1,19	1,62	1,25	1,56	1,44	1,16	0,34	1,33	1,26	0,66	1,00	
	Germacreno D-4-ol	1574	0,27	0,17	0,35	0,26	0,26								0,65					
	Espatuleno	1577	0,10		0,12	0,12	0,55	0,64	0,55	0,55	0,39	0,50	0,55	0,49		0,39	0,68	0,39	0,18	
	Thujopsan-2 $\alpha$ -ol	1586	3,16	2,43	3,41	0,72	2,01	4,42	4,27	5,98	4,40	5,79	4,93	4,28	1,00	4,56	4,43	2,19	2,65	
	$\beta$ -copaen-4 $\alpha$ -ol	1590			0,26	0,19	0,19				0,21	0,28							1,86	
	Viridiflorol	1592	1,61	1,02	1,48	0,31	1,00	2,42	2,40	3,03	2,37	3,17	2,59	2,14	0,29	2,45	2,32	1,12	1,77	
	Cubeban-11-ol	1595	0,82	0,53	0,67	0,20	0,40	1,26	1,17	1,62	1,34	1,29	1,22	1,17	0,13	1,04	0,93	0,46	1,40	
	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	36,08	46,13	43,07	11,39	3,57	29,09	23,94	29,26	27,85	1,46	30,42	13,60	36,38		31,30	30,76	3,83	17,57	
	Rosifolol	1600			0,60	0,60					0,46				0,27			0,59	1,08	
	<i>trans</i> - $\beta$ -elemenona	1602	0,22	0,34	0,39	2,28	0,93	0,93	0,93	0,26	0,25	0,31	0,37	0,32	1,43	0,29	0,28	2,69	0,45	
	1,10-di- <i>epi</i> -cubebol	1618	0,48	0,46	0,35	0,23	0,19	0,45	0,40	0,42	0,36	0,22	0,38	0,40	0,46	0,38	0,35	0,22	0,36	
	10- <i>epi</i> - $\gamma$ -eudesmol	1622	0,76	0,42	0,56	0,20	0,46	0,99	0,87	1,19	0,99	1,11	0,98	0,77	0,31	1,07	1,30	0,44	0,51	
	1- <i>epi</i> -cubebol	1627	0,34	0,24	0,18	0,38	0,44	0,23	0,16	0,22	0,26	0,22	0,24	0,21	1,02	0,20	0,15	0,26	2,65	
	Muurolo-4,10(14)-dien-1 $\beta$ -ol	1630	0,38	0,44	0,39	0,57		0,78	0,27	0,36	0,43	0,29	0,28	0,27		0,29	0,28	0,36	4,32	
	$\gamma$ -eudesmol	1630				29,41														
	Selina-1,3,7(11)-trien-8-one	1632																		
	<i>epi</i> - $\alpha$ -muurolo	1640					1,06	1,06			0,35		1,59		10,25			0,28		
	$\alpha$ -muurolo	1644	0,45	0,22	0,43	0,36	0,34	1,08	0,96	0,79	0,76	0,81	0,84		2,18	0,37	1,37	0,34	1,19	
	$\beta$ -eudesmol	1649																		
	Pogostol	1651		0,31	0,18						0,26			0,37					0,16	
	$\alpha$ -cadinol	1652	3,84	3,48	2,40	1,97	1,28	3,55	3,27	2,60	2,80	2,85	3,47	2,99	16,98	2,93	2,61	1,30	2,94	
	Selin-11-en-4 $\alpha$ -ol	1658			0,26	0,61			0,16	0,17		0,74	0,20		0,64	0,19	0,40	0,24	0,21	
	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -eudesmol	1662	0,51	0,41	0,18	0,30	0,18	0,36	0,23	0,56	0,64	0,40	0,56	0,36	0,54	0,46	0,36	0,18	0,46	
	(E)-bisabolol-11-ol	1667	0,29	0,25	0,34	0,26		0,52	0,58	0,32	0,24	0,22	0,36	0,32	0,10	0,41	0,35	0,20	0,34	
	14-hidroxi-9- <i>epi</i> -(E)-cariofilileno	1668					0,50	0,45	0,36	0,33		0,45	0,22	0,12			0,58		0,57	
	Guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1676	0,14	0,14	0,10	0,43	0,23	0,16	0,17	0,11	0,12	0,58	0,12	0,21		0,13	0,13	0,26	1,19	
	Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\alpha$ -ol	1685	0,44	0,36	0,61	0,35		1,03	1,22	0,32	0,32	0,44	0,48	0,26	1,10	0,41	0,47	0,23	0,35	
	Eudesma-4(15),7-dien-1 $\beta$ -ol	1687	1,88	2,30	1,70		0,52	1,00	0,38	0,32		0,58	0,25	1,20	2,73	0,69	0,67		1,05	
	Germacrona	1693				46,52	18,58				65,03							51,01		
	Furanodieno	1699																		
	Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	3,84	3,25	1,83		2,53	2,09	2,02	3,02		3,23	2,94	2,64	0,11	2,84	3,07		2,92	
	Amorpha-4,9-dien-14-al	1704	0,28	0,24	0,41		0,23	0,28	0,30	0,22		0,40	0,20	0,28		0,37	0,37		0,25	
	14-hidroxi- $\alpha$ -humuleno	1713	0,25	0,23	0,33		0,12	0,30	0,33	0,35	0,39	0,23	0,20	0,23		0,37	0,48		0,30	
	Nootkatol	1714						0,30		0,36		0,50	0,31	0,48		0,61	0,63		3,81	
	Acetato de guaiol	1725	0,56	0,49	0,44	0,51	0,61	0,36	0,45		0,40							0,30		
	Acetato de cedr-8(15)-en-9 $\alpha$ -ol	1741	1,88	1,10	1,02		0,75	1,46	1,52	1,60	2,33	1,46	1,01	0,98	0,35	2,39	2,94	0,47	2,22	



		(continua)																		
	δ-cadineno	1522	0,32	1,31	0,51	1,22	0,61	0,56	0,80	0,48	0,27	0,63	0,63	0,67	0,60	0,32	0,68	0,44	0,58	0,61
	Zonareno	1528	0,32	0,40	0,42	0,62	1,43	0,45	0,25	0,42	0,19	0,35	0,37	0,42	0,29	0,30	0,52	0,56	0,18	0,51
	α-cadineno	1537	0,82	0,91	0,92	1,49		1,01	0,60	0,95	0,57	0,66	0,69	0,78	0,45	0,73	1,13	1,33		1,18
	Selina-3,7(11)-dieno	1545		0,13																0,51
	Germacreno B	1559	4,77	11,79	5,51	17,80	18,44	13,61	9,40	16,89	8,54	13,24	15,09	15,86	10,90	11,36	14,07	16,99	8,59	12,33
	β-calacoreno	1564									1,64									
	<b>Sesquiterpenos oxigenados</b>	<b>79,81</b>	<b>71,95</b>	<b>78,61</b>	<b>65,34</b>	<b>73,04</b>	<b>57,23</b>	<b>55,41</b>	<b>62,85</b>	<b>73,19</b>	<b>62,26</b>	<b>77,9</b>	<b>59,32</b>	<b>59,12</b>	<b>57,01</b>	<b>68,19</b>	<b>74,18</b>	<b>60,66</b>	<b>59,77</b>	<b>59,77</b>
	Curzereno	1499					18,45				10,05				9,84					8,87
	Occidentalol	1550	0,50		0,66						0,14									
	(E)-nerolidol	1561	1,02	0,79	1,35	0,55	0,77	1,37	0,77	0,77	0,60			1,14	1,43	0,64	1,12	0,79	1,00	1,01
	Germacreno D-4-ol	1574	0,14									0,74			0,65		0,12			0,24
	Espatuleno	1577		0,47	0,30	0,26	0,23	0,39	0,27	0,30	0,20	0,12	0,32	0,40		0,14	0,36		0,18	
	Thujopsan-2α-ol	1586	2,19	3,21	3,63	1,90	2,55	4,76	5,10	2,83	1,98	5,97	3,61	4,57	5,78	1,62	3,77	2,61	3,88	3,07
	β-copaen-4α-ol	1590	1,95	0,32	2,17	0,29					0,45					0,35				0,13
	Viridiflorol	1592	0,93	1,45	1,60	0,78	1,29	2,39	2,69	1,40	1,03	3,03	1,83	2,32	2,73	0,78	1,86	1,40	2,29	1,55
	Cubeban-11-ol	1595	1,82	1,16	2,17	0,88	0,97	1,27	1,19	0,90	0,51	1,50	0,73	0,87	1,02	0,43	1,12	0,69	0,98	0,92
	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O		12,78	28,77	17,25	30,34	33,93	33,84	12,22	38,13	3,04	31,08	36,50	32,77	38,49	9,79	34,97	32,50	3,83	35,32
	Rosifolol	1600	1,38		1,18						0,71									1,20
	trans-β-elemenona	1602	0,49	1,34	0,48	0,73	0,30	0,30	0,68	0,23	2,39	0,43	0,34	0,34	0,37	1,69	0,35	0,23	2,20	0,32
	1,10-di-epi-cubeno	1618	0,23	0,57	0,35	0,55	0,43	0,40	0,35	0,34	0,21	0,38	0,34	0,32	0,35	0,30	0,37	0,40	0,26	0,41
	10-epi-γ-eudesmol	1622	3,40	0,82	2,82	0,50	0,49	1,02	0,93	0,85	0,39	1,12	0,73	0,93	1,17	0,30	0,76	0,92	0,73	0,67
	1-epi-cubeno	1627	3,96	0,30	2,98	0,29	0,26	0,20	0,28	0,19	0,48	0,18	0,20	0,16	0,23	0,39	0,19	0,22	0,25	0,23
	Murola-4,10(14)-dien-1β-ol	1630		0,26	0,20		0,27						0,34							
	γ-eudesmol	1630	5,59	0,49	4,36	0,37	0,38	0,33	0,18	0,37	0,73	0,26		0,18	0,39	0,39	0,46	0,33	0,40	0,37
	Selina-1,3,7(11)-trien-8-one	1632																		
	epi-α-murolol	1640	0,28	1,59		1,19		0,87		0,65	0,31			0,72					1,67	
	α-murolol	1644	0,80	1,81	0,60	0,82	0,34	0,74	0,61	0,65	0,40	0,82	0,27		1,25	0,31	0,55	0,32	0,66	0,35
	β-eudesmol	1649			0,24						1,44									
	Pogostol	1651	0,13				0,27			0,28										0,30
	α-cadinol	1652	2,36	5,05	2,57	4,64	2,79	2,81	2,89	2,69		2,32	2,40	2,32	2,52	2,32	2,65	3,24	2,75	3,24
	Selin-11-en-4α-ol	1658	0,35		0,32	0,16		0,19	0,97		0,66	0,28	0,14	0,19	0,23	0,55	0,20		0,52	
	7-epi-α-eudesmol	1662	0,40	0,57	0,39	0,75	0,43	0,48	0,33	0,42	0,29	0,30	0,26	0,27	0,28	0,34	0,39	0,62	0,36	0,40
	(E)-bisabolol-11-ol	1667	0,32	0,70	0,32	0,37	0,22	0,34	0,36	0,24	0,26	0,36	0,28	0,29	0,41	0,38	0,20	0,25	0,30	
	14-hidroxi-9-epi-(E)-cariofileno	1668	0,47	0,49	0,48	0,48	0,43	0,20	0,24	0,36		0,44	0,36	0,19	0,56	0,27				
	Guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1676	1,34	0,26	1,11	0,22	0,11	0,14	0,30		0,53	0,09			0,12	0,26	0,12	0,17	0,39	0,16
	Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1α-ol	1685	0,47	0,84	0,37	0,51	0,31	0,31	0,52	0,31	0,24	0,40	0,36	0,34	0,70	0,40	0,40	0,33	0,28	0,44
	Eudesma-4(15),7-dien-1β-ol	1687	1,02	1,38	1,06	0,50	0,76	0,66		1,03		0,72	1,00	0,83	0,57		0,78	0,73		1,10
	Germacrona	1693							9,15		46,27					36,28				42,90
	Furanodieno	1699							8,36											

	1700	2,61	3,68	2,40	3,07	2,23	3,06	2,70	2,41	2,06	2,06	2,20	2,86	3,15	(conclusão)
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	2,61	3,68	2,40	3,07	2,23	3,06	2,70	2,41	2,06	2,06	2,20	2,86	3,15	3,28
Amorpha-4,9-dien-14-al	1704	0,27	0,24	0,27	0,16	0,19	0,33	0,17	0,38	0,23	0,27	0,38	0,30	0,24	0,31
14-hidroxi- $\alpha$ -humuleno	1713	0,44	0,44	0,37	0,39	0,26	0,34	0,12	0,36	0,24	0,24	0,35	0,34	0,47	0,30
Nootkatol	1714	4,56	0,53	3,50	0,46	0,39	0,51	0,38	0,40	0,43	0,41	0,46			
Acetato de guaioil	1725							0,39	0,57				0,50	0,60	0,56
Acetato de cedr-8(15)-en-9 $\alpha$ -ol	1741	1,73	2,52	1,23	1,77	1,08	1,91	1,10	1,30	1,03	1,10	1,10	3,85	3,96	1,80
1746								2,22	1,22				1,69	3,96	2,13
Epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-one	1748	0,67	0,90	0,49	0,89	0,85	0,83	0,17	0,61	0,60	0,52	0,54	0,18	0,95	1,27
2-hexil-(E)-cinnamaldeído	1755	22,16	0,89	14,62	0,62	0,35	0,82	1,13	0,80	0,73	0,83	1,18	1,10	0,83	1,55
7,14-anhidro-amorfã-4,9-dieno	1775	0,73	1,76	0,75	0,80	0,91	1,01	0,55	1,07	0,82	0,88	1,37	0,28	0,32	0,21
2 $\alpha$ -hidroxi-amorfã-4,7(11)-diene	1775	0,73	1,76	0,75	0,80	0,91	1,01	0,55	1,07	0,82	0,88	1,37	0,28	0,32	0,21
2 $\alpha$ -hidroxi-amorfã-4,7(11)-diene	1788	0,36	0,34	0,28	0,27	0,29	0,27	0,36	0,32	0,43	0,40	0,43	0,25	0,36	0,42
Acetato de 8-cedren-13-ol	1805	0,11		0,10				0,19					0,21		0,17
2 $\alpha$ -acetoxi-amorfã-4,7(11)-diene	1823	0,43	0,89	0,38	1,01	0,93	0,87	0,21	0,60	0,62	0,55	0,52	0,26	1,00	1,39
Acetato de khusinol	1839	0,22	0,51	0,23	0,51	0,49	0,52	0,13	0,34	0,32	0,31	0,26	0,16	0,59	0,72
Acetato de eudesm-7(11)-en-4-ol	1887			0,14		0,18	0,22	0,15	0,27	0,16		0,14	0,14		0,35
Acetato de oplopanonil															

FONTE: O autor (2019)

LEGENDA: IR = Índice de retenção (Adams, 2017)

#### **4 TEOR, COMPOSIÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L. EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE**

##### **RESUMO**

A variabilidade de composição química de óleos essenciais pode ser influenciada por fatores abióticos, como temperatura, precipitação, radiação solar e composição do solo, e pode ter influência direta nas suas atividades biológicas. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência sazonal no teor, na composição, atividades antioxidante e antibacteriana do óleo essencial de *Eugenia uniflora*. As coletas foram realizadas em outubro de 2017 e março, maio e agosto de 2018. A extração de óleo essencial foi realizada por hidrodestilação e sua composição determinada em cromatógrafo em fase gasosa acoplado em espectrômetro de massas. O teor de óleo essencial foi menor no inverno (agosto/2018), 1,04%. A composição do óleo essencial nas diferentes estações não teve alteração em relação aos compostos, diferenciando-se somente nas quantidades destes. O composto principal é germacrona. Sua porcentagem foi maior na primavera (48,05%) e verão (45,00%). A atividade antioxidante pode ter sido influenciada pelas maiores porcentagens de germacrona, com melhores valores de concentração inibitória (IC<sub>50</sub>) no verão (0,62 mg mL<sup>-1</sup>) seguido pela primavera (0,98 mg/mL). Os óleos essenciais de *E. uniflora* testados possuem atividade antibacteriana de moderada a fraca e foram mais eficientes contra *Escherichia coli* quando comparados com os resultados obtidos com outras espécies de bactérias.

Palavras-chave: Pitangueira. Atividade bactericida. DPPH. Germacrona. Sesquiterpenos.

## YIELD, COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Eugenia uniflora* L. ESSENTIAL OIL AS A FUNCTION OF SEASONALITY

### ABSTRACT

The chemical composition of essential oils can be affected by many abiotic factors such as temperature, precipitation, solar radiation and soil compositions. which in turns affect its biological activities. The objective of this work was to evaluate the seasonal influence on the yield and composition and the antioxidant and antibacterial activities of *Eugenia uniflora* essential oil. The plant material was collected in October 2017 and March, May and August 2018. The extraction of essential oil was performed by hydrodistillation and its composition determined by gas chromatograph coupled to mass spectrometer. The lowest essential oil yield was observed in winter (August / 2018). The essential oil composition did not change during the seasons but differed in its amount. . Germacrone was the main compound and its ercentage was higher in spring (48.05%) and summer (45.00%). The antioxidant activity may have been related to higher percentages of germacrone, with better inhibitory concentration (IC50) values in summer (0.62 mg mL<sup>-1</sup>) followed by spring (0.98 mg mL<sup>-1</sup>). The *E. uniflora* essential oils tested had moderate to weak antibacterial activity and were more efficient against *Escherichia coli* when compared to the other bacterial species.

Keywords: Surinan cherry tree. bactericidal activity. DPPH. Germacrone. Sesquiterpenes.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

Metabólitos secundários de plantas aromáticas e medicinais, como compostos fenólicos e compostos terpênicos, apresentam atividades antimicrobiana (RONGAI et al., 2017; MOSTAFA et al., 2018), anti-inflamatória (SHAZHNI; RENU; VIJAYARAGHAVAN, 2018), biocida (ANESE et al., 2018; PINTO et al., 2018) e antioxidante (BENABDALLAH; ZELLAGUI; DEMIRTAS, 2017; DIT et al., 2017). Segundo Chaves et al. (2017), fatores edafoclimáticos, como pluviosidade, luminosidade, temperatura, radiação solar e composição do solo, podem afetar o teor e a composição destes produtos do metabolismo secundário vegetal e consequentemente afetam a eficiência de suas propriedades biológicas.

O efeito de fatores abióticos sobre o teor e a composição de óleos essenciais tem sido demonstrado em diversos trabalhos. Alterações no teor e na composição de óleos essenciais de espécies do gênero *Leptospermum* (Myrtaceae) foram demonstradas por Demuner et al. (2011) quando coletas ocorreram em estações secas e chuvosas. Mudanças na composição de compostos terpênicos também foram observadas em plantas coletadas em diferentes meses do ano (SMITHA; TRIPATHY, 2014; GASPARETTO et al., 2017). Segundo Carvalho-filho et al. (2006) e Nascimento et al. (2006) as alterações no teor e na composição de compostos secundários também podem ser verificadas durante o horário de coleta do material vegetal. Tais alterações foram observadas em *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) e *Andropogum* sp. (Poaceae), respectivamente, durante o decorrer do dia. Para Morais (2009), essas variações podem ser atribuídas, principalmente, as alterações de temperatura.

Dhouioui et al. (2016) e Bezerra et al. (2017) também observaram em *Aristolochia longa* (Aristolochiaceae) e *Plectranthus amboinicus* (Lamiaceae), respectivamente, a influência de fatores abióticos na composição de seus óleos essenciais coletados em diferentes estações. As mudanças observadas foram capazes, segundo os autores, de influenciar as atividades biológicas testadas.

*Eugenia uniflora*, Myrtaceae com ocorrência em toda a América do Sul, é uma potencial espécie de utilização na indústria cosmética. Seu óleo essencial é utilizado como antioxidante natural e também apresenta atividade antibacteriana (VICTORIA et al., 2012). A maioria dos compostos identificados no óleo essencial da espécie é de sesquiterpenos. Segundo Stefanello, Pascoal e Salvador (2011), estes

compostos são os principais responsáveis pelas atividades biológicas descritas para o óleo essencial da espécie. Porém, existem muitos relatos de diferentes composições do óleo essencial da espécie que podem ser atribuídos a sua variabilidade genética. No entanto, esta diversa composição também pode ser decorrente de mudanças sazonais, como observadas por Costa et al. (2009).

Portanto o objetivo deste trabalho foi verificar a melhor época de coleta de folhas de *E. uniflora*, para se obter maior teor de óleo essencial, identificar a influência sazonal na sua composição e nas atividades antioxidante e antibacteriana.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Material vegetal

Folhas de *Eugenia uniflora* foram utilizadas na avaliação do efeito da sazonalidade no teor, composição e atividades antioxidante e antibacteriana de seus óleos essenciais. O genótipo A05 utilizado é parte da coleção de pitangueiras da área experimental de plantas medicinais da Universidade Federal do Paraná, no município de Pinhais - PR. A área está localizada entre as coordenadas 25°23'30" S e 49°07'30" W e a 920m de altitude. O clima da região é temperado úmido com verão temperado, apresenta precipitação anual de 1400mm, temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, sendo classificado como Cfb no sistema de classificação climática de Köppen (KÖPPEN, 1931).

As coletas foram realizadas em outubro de 2017 (Primavera), março de 2018 (Verão), maio de 2018 (Outono) e agosto de 2018 (Inverno).

### 4.2.2 Extração e análise de óleo essencial

Para extração dos óleos essenciais foram coletados cerca de 400g de folhas. O material vegetal foi previamente seco em temperatura ambiente por 48 horas. A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação em aparelho Clevenger por quatro horas em três repetições, cada uma com 100g de folhas com 1000 mL de água destilada. O teor de óleo essencial foi determinado em base de massa seca, expresso em porcentagem (% m m<sup>-1</sup>).

As amostras de óleos essenciais foram armazenadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento de análise. Para identificação e quantificação dos componentes dos óleos essenciais as amostras foram diluídas em hexano chegando a uma concentração de óleo igual a 1%. Uma alíquota de  $1\ \mu\text{L}$  desta solução foi injetada em cromatógrafo gasoso acoplado em espectrômetro de massas (CG/EM) Shimadzu (2010 Plus), lotado no Departamento de Química da UFPR. O injetor foi mantido a  $250\ ^{\circ}\text{C}$ . Na separação dos constituintes foi utilizada a coluna capilar HP-5MS ( $30\text{m} \times 0,25\text{mm} \times 0,25\mu\text{m}$ ) e gás hélio como carreador ( $1\ \text{mL min}^{-1}$ ). A temperatura do forno foi programada de forma crescente de  $60$  a  $240^{\circ}\text{C}$  a um taxa de  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . A identificação dos constituintes químicos foi obtida por comparação de seus espectros de massas com banco de dados e também dos seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de *n*-alcanos (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963) e comparados com dados da literatura (ADAMS, 2017). Na quantificação dos compostos foi utilizado um CG com detector DIC (ionização de chamas) nas mesmas condições descritas acima, exceto pelo gás carreador, hidrogênio a  $1,5\ \text{mL min}^{-1}$ . A composição porcentual foi obtida pela integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (%).

#### 4.2.3 Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante dos óleos essenciais via radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi determinada conforme procedimento de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Os óleos foram diluídos em cinco concentrações ( $100$ ,  $500$ ,  $1000$ ,  $2000$  e  $3000\ \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em metanol no volume final de  $100\ \mu\text{L}$  e adicionados a  $3,9\ \text{mL}$  de solução de DPPH em metanol ( $23,66\ \mu\text{g mL}^{-1}$ ). A reação ocorreu no escuro em temperatura ambiente por  $30\ \text{min}$ , seguido de leitura das absorvâncias em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu®-1800, a  $515\ \text{nm}$ .

Os resultados foram expressos como  $\text{IC}_{50}$  ( $\text{mg mL}^{-1}$ ), que corresponde à dose necessária para causar 50% inibição do DPPH.

#### 4.2.4 Atividade antibacteriana

O método de microdiluição em micro-placas de 96 poços (CLSI, 2012) foi utilizada para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais para a atividade antibacteriana. Três cepas bacterianas foram utilizadas, duas GRAM negativas (*Escherichia coli* - ATCC 11775 e *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 13388) e uma GRAM positiva (*Staphylococcus aureus* - ATCC 6538). A concentração de bactérias em cada poço da microplaca foi de  $5 \times 10^5$  unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC mL<sup>-1</sup>).

As amostras de óleos essenciais foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) nas seguintes concentrações: 0,97; 1,95; 3,90; 7,81; 15,12; 31,25; 62,50; 125,00; 250,00; 500,00; 1000,00 e 2000,00 µg mL<sup>-1</sup>. Após a inoculação as placas foram incubadas em estufa a 36°C durante 48h. Cada teste de concentração foi realizado em triplicata. Decorrido o período de incubação foram depositados em todos os poços 50 µL de solução aquosa a 0,1% de cloreto de trifetil tetrazólio (TTC) e as placas re-incubadas por um período de 2h. A CIM foi definida como a concentração mínima da amostra que inibiu o crescimento visível, tal como indicado por coloração TTC. A coloração vermelha do meio indica atividade respiratória das bactérias (CLSI, 2012). Como referência foi utilizado o antibiótico Cloranfenicol (0,12; 0,24; 0,48; 0,97; 1,95; 3,90; 7,81; 15,60; 31,25; 62,50; 125,00 e 250 µg mL<sup>-1</sup>).

#### 4.2.5 Análises estatísticas

O teor de óleo essencial, a quantidade de sesquiterpenos e a atividade antioxidante foram testadas quanto a homogeneidade pelo teste de Bartlett e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Foi utilizado o programa estatístico ASSISTAT versão 7.7. (SILVA; AZEVEDO, 2016).

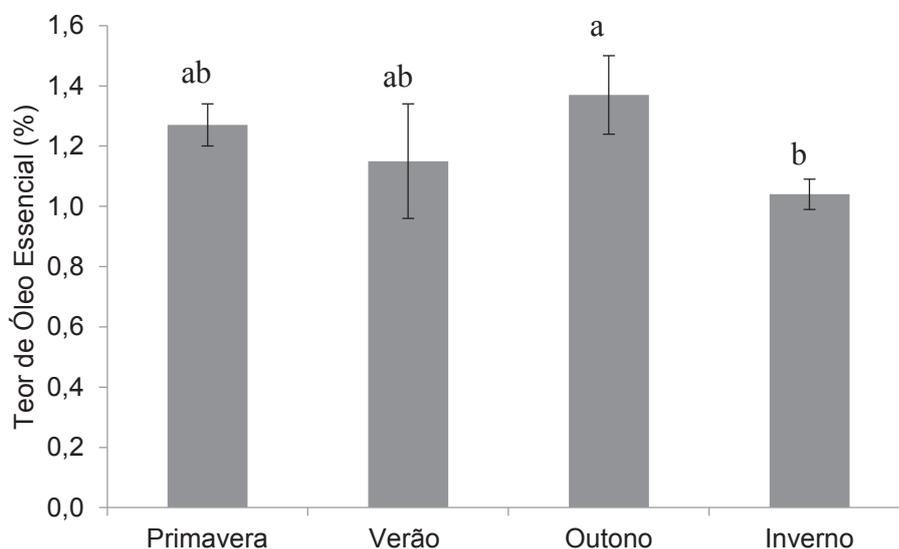
Para a determinação da similaridade química entre as datas de coleta foi utilizado o método de análise de cluster hierárquica (HCA) pelo software R versão 3.4.1 (R CORE TEAM, 2014). Nesta análise 11 compostos majoritários, com porcentagem superior a 1% em pelo menos uma das datas de coleta foram utilizados (TABELA 3.1).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1 Teor e composição do óleo essencial

Os óleos essenciais de folhas secas de *E. uniflora* coletadas nas estações de primavera, verão, outono e inverno renderam, respectivamente, 1,27%, 1,15%, 1,37% e 1,04% (FIGURA 4.1). Os resultados obtidos corroboram com outros trabalhos realizados de avaliação da influência da sazonalidade no teor de óleos essenciais. Segundo Costa et al. (COSTA et al., 2009), o teor de óleo essencial de *Eugenia uniflora* apresentou um decréscimo em estação seca (0,2%) em relação a estação mais chuvosa (0,3%), resultados também observados em espécies do gênero *Mentha* (Lamiaceae) por Hussain et al. (2010). Menores teores de óleo essencial foram encontrados na estação de inverno em comparação com o verão.

FIGURA 4.1 - TEOR MÉDIO DE ÓLEO ESSENCIAL NAS QUATRO ESTAÇÕES (PRIMAVERA, VERÃO, OUTONO E INVERNO) DE *E. uniflora*. COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) = 10,19%. MESMAS LETRAS NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELO TESTE DE TUKEY A 5% DE PROBABILIDADE.

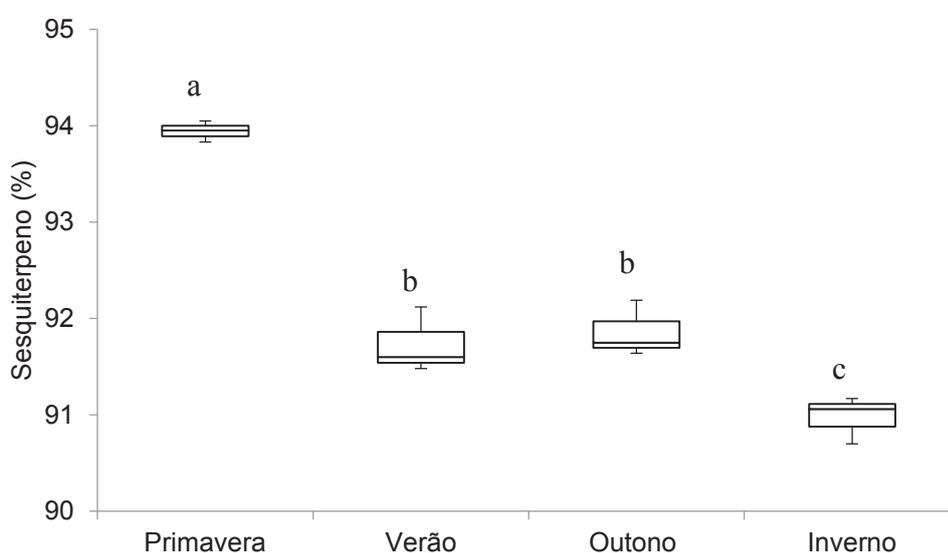


FONTE: O autor (2019)

Foram identificados nos óleos essenciais extraídos nas quatro estações um total de 44 compostos, representando 93,94% no óleo obtido na primavera, 91,91% no verão, 91,86% no outono e 90,98% no inverno. Sesquiterpenos é a classe de compostos terpênicos mais representativa nos óleos essenciais de *E. uniflora* obtidos.

No inverno foi observada a menor quantidade destes compostos (TABELA 4.1 e FIGURA 4.2). Os principais constituintes do óleo essencial encontrados em todos os óleos analisados foram curzereno (7,73 – 10,14%), germacreno B (6,17 – 7,95%), 6-etenil-6-metil-3,5-di(prop-1-en-2-il)cicloexen-2-1-ona (9,39 – 10,56%) e germacrona (41,15 – 48,05%). Nos resultados apresentados é possível verificar quantidades diferentes em alguns compostos dependendo da estação do ano, porém a composição é praticamente inalterada.

FIGURA 4.2 - VARIAÇÃO NA QUANTIDADE DE SESQUITERPENOS NOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *E. uniflora* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DE COLETA. COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) = 0,28%. LETRAS IGUAIS NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELO TESTE DE TUKEY A 5% DE PROBABILIDADE.



FONTE: O autor (2019)

Alterações no teor e na composição de óleos essenciais são relatadas relacionando a variação de condições ambientais onde as espécies se encontram. Segundo Moraes (2009), intensidade luminosa, disponibilidade de água e variação de temperatura podem causar mudanças metabólicas promovendo o maior ou menor acúmulo de compostos secundários.

TABELA 4.1 - COMPOSTOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS NOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *E. uniflora*, EM DIFERENTES ÉPOCAS DE COLETA.

(continua)

Composto	IR <sup>c</sup>	IR <sup>t</sup>	% (± dp)			
			Primavera	Verão	Outono	Inverno
(E)-β-ocimeno	1045	1044	-	0,18 (±0,10)	-	-
δ-elemeno	1333	1335	0,20 (±0,01)	0,20 (±0,03)	0,26 (±0,08)	0,22 (±0,03)
β-elemeno	1387	1389	1,58 (±0,11)	1,64 (±0,20)	2,13 (±0,60)	1,80 (±0,22)
(E)-cariofileno	1412	1417	0,35 (±0,02)	0,43 (±0,06)	0,59 (±0,17)	0,49 (±0,08)
γ-elemeno	1429	1434	1,15 (±0,05)	0,93 (±0,11)	1,22 (±0,35)	0,93 (±0,08)
β-chamigreno	1469	1476	0,20 (±0,02)	0,18 (±0,03)	0,26 (±0,07)	0,17 (±0,03)
germacreno D	1474	1484	0,58 (±0,01)	0,54 (±0,10)	0,73 (±0,23)	0,58 (±0,05)
β-selineno	1478	1489	0,17 (±0,01)	0,16 (±0,02)	0,23 (±0,08)	0,16 (±0,02)
Viridifloreno	1489	1496	1,07 (±0,04)	1,18 (±0,21)	1,68 (±0,50)	1,31 (±0,12)
Curzereno	1492	1499	7,73 (±0,12)	8,82 (±0,50)	10,14 (±1,22)	9,22 (±0,40)
germacreno A	1497	1508	0,64 (±0,04)	0,64 (±0,10)	0,67 (±0,14)	0,65 (±0,04)
(Z)-γ-bisaboleno	1505	1514	0,12 (±0,02)	0,18 (±0,03)	0,18 (±0,04)	0,20 (±0,01)
δ-cadineno	1518	1522	0,19 (±0,01)	0,20 (±0,02)	0,25 (±0,04)	0,21 (±0,02)
Zonareno	1527	1528	0,17 (±0,01)	0,15 (±0,02)	0,18 (±0,05)	0,13 (±0,01)
selina-3,7(11)-dieno	1531	1545	0,47 (±0,04)	0,36 (±0,05)	0,43 (±0,10)	0,30 (±0,04)
germacreno B	1549	1559	7,95 (±0,22)	6,67 (±0,88)	7,53 (±1,92)	6,17 (±0,39)
(E)-nerolidol	1558	1561	0,45 (±0,02)	0,48 (±0,01)	0,44 (±0,04)	0,52 (±0,01)
Espatuleno	1565	1577	0,11 (±0,01)	0,14 (±0,01)	0,12 (±0,02)	0,15 (±0,01)
thujopsan-2-α-ol	1575	1586	0,55 (±0,03)	0,73 (±0,03)	0,72 (±0,09)	0,84 (±0,02)
β-copaen-4-α-ol	1578	1590	0,30 (±0,01)	0,29 (±0,03)	0,26 (±0,02)	0,29 (±0,01)
Viridiflorol	1582	1592	0,27 (±0,02)	0,31 (±0,02)	0,33 (±0,03)	0,36 (±0,01)
cubeban-11-ol	1585	1595	0,17 (±0,01)	0,18 (±0,01)	0,18 (±0,02)	0,22 (±0,01)
6-etenil-6-metil-3,5-di(prop-1-en-2-il)cicloexen-2-1-ona*	1594		9,39 (±0,04)	10,15 (±0,55)	10,12 (±1,09)	10,56 (±0,06)
trans-β-elemenone	1598	1602	2,40 (±0,09)	2,20 (±0,09)	2,07 (±0,23)	2,23 (±0,03)
1,10-di- <i>epi</i> -cubanol	1604	1618	0,20 (±0,01)	0,22 (±0,01)	0,20 (±0,01)	0,27 (±0,01)
10- <i>epi</i> -γ-eudesmol	1614	1622	0,16 (±0,01)	0,18 (±0,02)	0,17 (±0,02)	0,25 (±0,01)

TABELA 4.1 - COMPOSTOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS NOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *E. uniflora*, EM DIFERENTES ÉPOCAS DE COLETA.

Composto	IR <sup>c</sup>	IR <sup>t</sup>	% (± dp)				(Conclusão)
			Primavera	Verão	Outono	Inverno	
1- <i>epi</i> -cubanol	1617	1627	0,34 (±0,02)	0,34 (±0,02)	0,33 (±0,04)	0,43 (±0,00)	
<i>γ</i> -eudesmol	1622	1630	0,54 (±0,02)	0,44 (±0,02)	0,50 (±0,05)	0,62 (±0,01)	
<i>α</i> -muurolool	1637	1644	0,25 (±0,01)	0,33 (±0,03)	0,32 (±0,03)	0,39 (±0,01)	
Pogostol	1640	1651	0,16 (±0,00)	0,19 (±0,02)	0,16 (±0,02)	0,25 (±0,02)	
<i>α</i> -cadinol	1645	1652	1,68 (±0,05)	1,87 (±0,19)	1,77 (±0,05)	1,82 (±0,01)	
selin-11-en-4- <i>α</i> -ol	1651	1658	0,62 (±0,02)	0,67 (±0,05)	0,73 (±0,10)	0,70 (±0,03)	
7- <i>epi</i> - <i>α</i> -eudesmol	1656	1662	0,29 (±0,01)	0,27 (±0,02)	0,25 (±0,01)	0,31 (±0,01)	
( <i>E</i> )-bisabolol-11-ol	1661	1667	0,25 (±0,01)	0,27 (±0,02)	0,27 (±0,02)	0,33 (±0,01)	
guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1671	1676	0,48 (±0,01)	0,46 (±0,02)	0,46 (±0,02)	0,44 (±0,06)	
germacra-4(15), 5, 10(14)-trien-1- <i>α</i> -ol	1676	1685	0,27 (±0,02)	0,29 (±0,03)	0,29 (±0,01)	0,31 (±0,03)	
Germacrona	1689	1693	48,05 (±0,68)	45,00 (±0,65)	41,15 (±3,67)	42,68 (±0,92)	
acetato de guaiool	1711	1725	0,49 (±0,03)	0,45 (±0,03)	0,49 (±0,04)	0,43 (±0,02)	
2-hexil-( <i>E</i> )-cinnamaldeído	1729	1748	0,24 (±0,05)	0,17 (±0,03)	0,24 (±0,04)	0,15 (±0,01)	
acetato de cedr-8(15)-en-9- <i>α</i> -ol	1741	1741	1,19 (±0,09)	1,42 (±0,19)	1,46 (±0,14)	1,50 (±0,09)	
7,14-anhidro-amorfa-4,9-dieno	1749	1755	1,90 (±0,17)	1,55 (±0,22)	1,63 (±0,15)	1,44 (±0,15)	
2- <i>α</i> -hidroxil-amorfa-4,7(11)-dieneo	1755	1775	0,32 (±0,02)	0,45 (±0,03)	0,49 (±0,04)	0,53 (±0,02)	
acetato de 8-cedren-13-ol	1789	1788	0,18 (±0,02)	0,27 (±0,09)	0,22 (±0,04)	0,30 (±0,03)	
acetato de khusinol	1823	1823	0,13 (±0,02)	0,10 (±0,00)	-	-	
Monoterpenos oxigenados	-	-	-	0,18 (±0,10)	-	-	
Sesquiterpenos hidrocarbonetos	14,83 (±0,45)	13,48 (±1,75)	16,35 (±4,27)	13,32 (±1,09)			
Sesquiterpenos oxigenados	79,11 (±0,34)	78,26 (±1,70)	75,51 (±4,04)	77,53 (±1,07)			
Total de compostos identificados	93,94 (± 0,11)	91,91 (± 0,34)	91,86 (± 0,29)	90,98 (± 0,25)			

FONTE: O autor (2019)

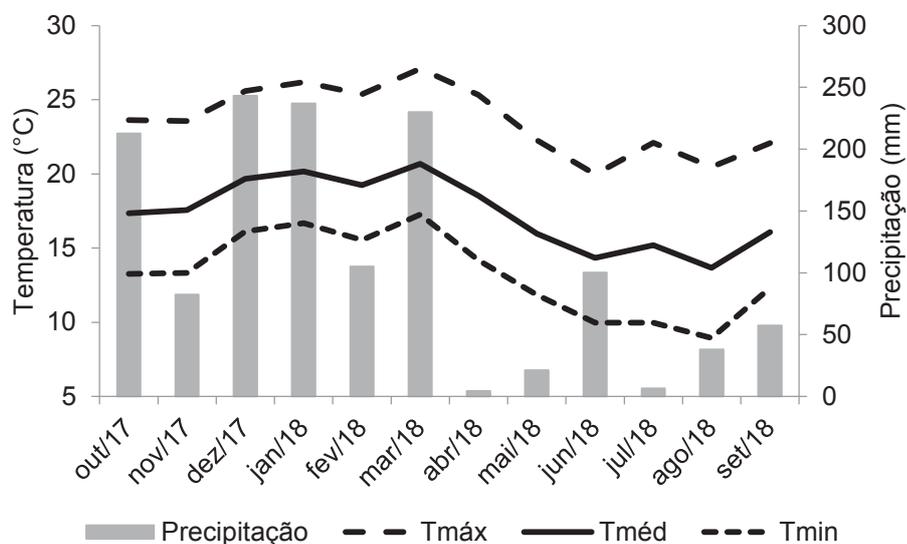
LEGENDA: IR<sup>c</sup> = Índice de retenção calculado; IR<sup>t</sup> = Índice de retenção Adams (2017); dp = desvio padrão; (\*) Composto identificado conforme Sciarone et al. (2019).

Mudanças no teor e na composição de óleos essenciais podem ser efeito de estádios fenológicos, visto que muitas vezes as rotas metabólicas podem ser direcionadas ao crescimento vegetal durante o estágio vegetativo em relação ao de plantas em floração e frutificação (SALEMA et al., 2018). O teor de óleo também está diretamente relacionado ao incremento da produção de fitomassa (MORAIS, 2009), estações como verão e primavera proporcionam maior fitomassa e portanto maior teor de óleo essencial. Além disso, os maiores teores de compostos terpênicos podem estar envolvidos com períodos de maior atividade de polinizadores (MAFFEI, 2010), uma vez que estes compostos apresentam papel importante em interações ecológicas entre planta-polinizador.

Os compostos terpênicos também apresentam outras funções biológicas importantes, como atividade antibacteriana, antifúngica e inseticida (BONFIM et al., 2015; ZHANG et al., 2016; ANESE et al., 2018). Por essa razão é possível verificar aumento de biossíntese de compostos, responsáveis por tais ações, em épocas do ano que as plantas estejam mais suscetíveis a estes organismos. A proliferação de bactérias e de fungos se dá principalmente em épocas do ano mais quentes e úmidas assim como maior ação de insetos herbívoros.

Segundo Stefanello, Pascoal e Salvador (2011), compostos sesquiterpênicos podem ser os principais responsáveis pela ação biológica de óleos essenciais de plantas da família Myrtaceae. No presente trabalho foi possível verificar maior concentração destes compostos na primavera, seguida pelo verão e outono (FIGURA 4.2). Os dados de temperatura e precipitação (FIGURA 4.3) mostram que as coletas realizadas em outubro/2017 e março/2018 apresentaram maiores valores. Durante o outono (maio/2017) ocorreu redução de valores destas variáveis, porém a quantidade de sesquiterpenos é estatisticamente similar às concentrações de verão, que pode ser explicada pela proximidade de coleta entre estas duas estações. Na primavera além de altas temperaturas e precipitação, é possível que o aumento de concentração de sesquiterpenos possa estar associado com o estágio fenológico da espécie, pois *E. uniflora* apresenta floração iniciada em setembro e portanto maior interação entre planta-polinizador é necessária.

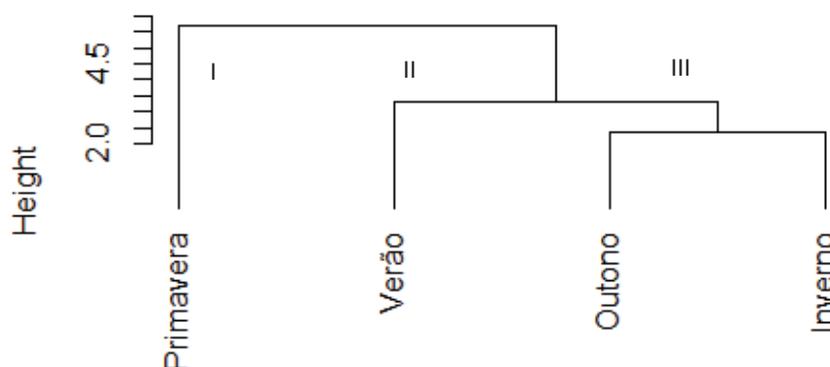
FIGURA 4.3 - ACUMULADO DE PRECIPITAÇÃO (mm) E MÉDIA DAS TEMPERATURAS MÁXIMAS, MÉDIAS E MÍNIMAS (°C) AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO NO LOCAL DE COLETA.



FONTE: SIMEPAR

A análise hierárquica de clusters (HCA) separou os óleos essenciais de *E. uniflora* em três grupos distintos (FIGURA 4.4). Amostras de inverno e outono apresentaram maiores semelhanças entre si, nestes óleos é possível verificar altas concentrações de curzereno, 10,14% e 9,22%, respectivamente, diferenciando-as das amostras de primavera (7,73%). Outro cluster é formado pela amostra de primavera. Esta amostra pode ser separada dos outros grupos por concentrações diferenciadas de germacrona (48,05%). A amostra de verão compõe o terceiro cluster. Óleos provenientes de folhas coletadas nesta estação apresentam concentrações da maioria de seus compostos majoritários semelhantes às concentrações observadas nas amostras de outono e inverno, com exceção de germacrona (45,00%).

FIGURA 4.4 - ANÁLISE DE CLUSTERS DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES DE ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *E. uniflora* COLETADAS NAS QUATRO ESTAÇÕES ENTRE 2017 E 2018. CORRELAÇÃO COFENÉTICA (CC) = 74,50%.



FONTE: O autor (2019)

#### 4.3.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos óleos essenciais de *E. uniflora*, coletados em diferentes estações do ano, foi determinada pelo teste de DPPH. Os resultados foram apresentados em valores de  $IC_{50}$ , e variaram entre 0,62 e 2,73  $mg\ mL^{-1}$  (TABELA 4.2). O óleo essencial coletado no verão foi o que apresentou maior atividade antioxidante em relação as demais coletas e também aos resultados obtidos por Victoria et al. (2012), que obtiveram  $IC_{50}$  igual a 0,83  $mg\ mL^{-1}$ . Apesar da menor atividade antioxidante que a coleta de verão, o óleo coletado na primavera, quando comparado aos coletados no outono e inverno são mais eficientes quanto ao sequestro do radical livre DPPH.

TABELA 4.2 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEO ESSENCIAL DE *E. uniflora*, COLETADOS EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DE DPPH.

$IC_{50}$ ( $mg\ mL^{-1}$ )	Estações			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
	0,98 <sup>bc</sup>	0,62 <sup>c</sup>	2,73 <sup>a</sup>	2,01 <sup>ab</sup>

FONTE: O autor (2019)

NOTA: Resultados seguidos pela mesma letra não diferenciam estaticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV) = 30,80

LEGENDA:  $IC_{50}$  = Concentração de inibição de 50% do radical livre DPPH.

No presente trabalho, a maior concentração do composto germacrona em coletas de primavera (48,05%) e verão (45,00%) pode ser responsável pela maior atividade antioxidante observada nestas amostras quando comparadas as amostras de outono e inverno. Germacrona, sesquiterpeno oxigenado, é relatado como composto altamente antioxidante, sendo capaz de captura e inativação de radicais livres. Entre os compostos majoritários de *Curcuma aeruginosa* foram relatadas altas concentrações de germacrona (THEANPHONG; MINGVANISH; KIRDMANEE, 2015). Segundo os autores, este composto é responsável pela forte atividade antioxidante do óleo essencial da espécie.

#### 4.3.3 Atividade antibacteriana

Os valores de CIM obtidos para o óleo essencial de *E. uniflora* nas diferentes estações contra *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus* são mostrados na TABELA 4.3.

TABELA 4.3 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *E. uniflora* E CLORANFENICOL PELO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO. OS RESULTADOS SÃO APRESENTADOS COMO CIM EM  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Espécies	Estações				Cloranfenicol
	Primavera	Verão	Outono	Inverno	
<i>P. aeruginosa</i>	> 2000	> 2000	> 2000	> 2000	125
<i>E. coli</i>	1000	1000	1000	1000	4
<i>S. aureus</i>	2000	2000	1000	1000	8

FONTE: O autor (2019)

Os resultados demonstram que os óleos essenciais de *E. uniflora* testados apresentaram atividade antibacteriana de moderada a fraca, segundo classificação de Aligianis et al. (2001) para produtos vegetais, que leva em consideração os valores de CIM (Forte: CIM abaixo de  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; Moderada: CIM entre 600 e  $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; Fraca: CIM acima de  $1600 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Os óleos essenciais testados foram mais eficientes contra *Escherichia coli*, em todas as estações ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), quando comparados com os resultados obtidos com as outras espécies de bactérias.

*Pseudomonas aeruginosa* sofreu o menor efeito do óleo essencial de *E. uniflora*. A maior concentração de óleo essencial utilizada neste experimento não foi capaz de impedir seu crescimento. Segundo Langeveld, Veldhuizen e Burt (2014),

muitas bactérias apresentam tolerância intrínseca aos componentes de óleos essenciais, fato que pode ser atribuído aos resultados obtidos.

A ação dos óleos essenciais sobre microrganismos está diretamente relacionada à sua composição. Muitos dos compostos dos óleos essenciais são reconhecidamente lipofílicos e esta característica os permitem atacar membranas celulares, perturbando suas estruturas, tornando-as permeáveis, além de agir sobre proteínas de membrana e na coagulação do citoplasma (BURT, 2004; CALO et al., 2015; SWAMY; AKHTAR; SINNIHAH, 2016).

Outro fator importante que determina ação antibacteriana dos óleos essenciais é a interação entre os seus diferentes compostos. Essa interação pode ser de sinergismo ou antagonismo (BURT, 2004). Portanto, os resultados observados em *S. aureus* onde a ação do óleo de *E. uniflora* foi distinta entre as estações de inverno/outono e primavera/verão, podem ser decorrente destas interações. A composição dos óleos permaneceu praticamente inalterada, porém as quantidades destes compostos sofreram alterações durante as épocas de coleta. Segundo Burt (op. cit.) não apenas a composição é responsável pela modulação de sua atividade biológica, mas também as quantidades destes compostos influenciam os resultados.

#### 4.4 CONCLUSÕES

- Diferenças entre as estações do ano (primavera, verão, outono e inverno) são capazes de interferir no teor e na composição (quantitativa) de óleos essenciais de *E. uniflora*;
- Durante o inverno, com baixas temperaturas e precipitação, são observados os menores médias de teores de óleo essencial e de sesquiterpenos;
- As menores percentuais de germacrona são obtidas nas coletas de outono e inverno;
- O composto germacrona, sesquiterpeno oxigenado, pode ser responsável pela atividade antioxidante do óleo essencial testado;
- A atividade antibacteriana do óleo essencial de *E. uniflora* é considerado entre moderada e fraca;
- A variação na quantidade dos compostos e a interação entre eles pode ser responsável pelas diferenças observadas na atividade antibacteriana.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry**. ed. 4.1. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2017.
- ALIGIANIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ANESE, S.; GAMBARRA, W. P. T.; GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J. Insecticidal action of *Drimys brasiliensis* Miens on black citrus. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 49, n. 3, p. 484-490, 2018.
- BENABDALLAH, F. Z.; ZELLAGUI, A.; DEMIRTAS I. Chemical composition of essential oils and antioxidant activities of extracts of two endemic plants from Algeria. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.**, v. 8, n. 1, p. 244-250, 2017.
- BEZERRA, C. F.; OLIVEIRA NETO, F. B.; SILVA, F. F. M.; BERTINI, L. M.; ALVES, L. A. Seasonal effect in essential oil composition and antioxidant activity of *Plectranthus amboinicus* leaves. **Biosci. J.**, v. 33, n. 6, p. 1608-1616, 2017.
- BONFIM, N. N. S.; NAKASSUGI, L. P.; OLIVEIRA, J. F. P.; KOHIYAMA, C. Y.; MOSSINI, S. A. G.; GRESPLAN, R.; NERILO, S. B.; MALLMANN, C. A.; ABREU-FILHO, B. A.; MACHINSKI Jr, M. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.). **Food Chem.**, v. 166, p. 330-336, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 94, p. 223-253, 2004.
- CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.
- CARVALHO-FILHO, J. L. S.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; EHLERT, P. A. D.; MELO, A. S.; CAVALCANTI, S. C. H.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SIVA-MANN, R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, n. 1, p. 24-30, 2006.

CHAVES, M. P.; CANUTO, K. M.; PEREIRA, R. C. A.; RODRIGUES, T. H. S.; PEREIRA, A. K. B.; BRITO, E. S.; ZOCCOLO, G. J. **Caracterização dos óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas cultivadas no horto da Embrapa Agroindústria Tropical**. Embrapa Agroindústria Tropical, 2017.

CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard**—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

COSTA, D. P.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 7, p. 1287-1293, 2009.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; MAGALHÃES, C. G.; SILVA, C. J.; MALTHA, C. R. A.; PINHEIRO, A. L. Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of *Leptospermum* (Myrtaceae) grown in Brazil. **Molecules**, v. 16, p. 1181-1191, 2011.

DHOUIOUI, M.; BOULILA, A.; CHAABANE, H.; ZINA, M. S.; CASABIANCA, H. Seasonal changes in essential oil composition of *Aristolochia longa* L. ssp. *paucinervis* Batt. (Aristolochiaceae) roots and its antimicrobial activity. **Ind. Crops Prod.**, v. 83, p. 301-306, 2016.

DIT, M. M.; BENYAHIA, M.; BENALI, F. T.; RAHMANI, M.; BOUAZZA, S. Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders. **Phytothérapie**, v. 15, p. 367-372, 2017.

GASPARETTO, A.; CRUZ, A. B.; WAGNER, T. M.; BONOMINI, T. J.; CORREA, R.; MALHEIROS, A. Seasonal variation in the chemical composition, antimicrobial and mutagenic potential of essential oils from *Piper cernuum*. **Ind. Crops Prod.**, v. 95, p. 256-263, 2017.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; NIGAM, P. S.; ASHRAFD, M.; GILANIF, A. H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **J. Sci. Food Agric.**, v. 90, p. 1827-1836, 2010.

KÖPPEN, W. **Grundriss Der Klimakunde**. Berlin: W. Guyter, 1931. 390p.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: A review. **Crit. Rev. Microbiol.**, v. 40, n. 1, p. 76-94, 2014.

MAFFEI, M. E. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. **S. Afr. J. Bot.**, v. 76, p. 612-631, 2010.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Hort. Bras.**, v. 27, p. 4050-4063, 2009.

MOSTAFA, A. A.; AL-ASKAR, A. A.; ALMAARY, K. S.; DAWOUD, T. M.; SHOLKAMY, E. N.; BAKRI, M. M. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 25, p. 361-366, 2018.

NASCIMENTO, I. B.; INNECCO, R.; MATOS, S. H.; BORGES, N. S. S.; MARCO, C. A. Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de capim-santo (*Andropogum* sp). **Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 123-127, 2006.

PINTO, Z. T.; CARNEIRO, J. F.; CARRIÇO, C.; CAETANO, R. L.; FERREIRA, V. S. B.; MENDONÇA, P. M.; BERENGER, A. L. R.; FIGUEIREDO, M. R. Acaricidal effects of seven Brazilian plant extracts. **Rev. Colomb. Entomol.**, v. 44, n. 1, p. 44-47, 2018.

R CORE TEAM, **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2014.

RONGAI, D.; PULCINI, P.; PESCE, B.; MILANO, F. Antifungal activity of pomegranate peel extract against fusarium wilt of tomato. **Eur. J. Plant Pathol.**, v. 147, p. 229-238, 2017.

SALEMA, N.; KEFIA, S.; TABBENA, O.; AYEDA, A.; JALLOULIA, S.; FERESA, N.; HAMMAMIB, M.; KHAMMASIB, S.; HRIGUAA, I.; NEFISIA, S.; SGHAIERA, A.; LIMANA, F.; ELKAHOUIA, S. Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. **Ind. Crops Prod.**, v. 124, p. 115-125, 2018.

SCIARRONE, D.; SCHEPIS, A.; GRAZIA GEMA, ROTONDO, A. ALIBRANDO, F.; CIPRIANO, R. R.; BIZZO, H.; DESCHAMPS, C.; SIDISKY, L. M.; MONDELLO, L. Collection and identification of an unknown component from *Eugenia uniflora* essential oil exploiting a multidimensional preparative three-GC system employing apolar, mid-polar and ionic liquid stationary phases. **Faraday Discuss.**, v. 218, p. 101-114. 2019.

SHAZHNI, J. R. A.; RENU, A.; VIJAYARAGHAVAN, P. Insights of antidiabetic, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of antimicrobial secondary metabolites of corm extract from *Caladium x hortulanum*. **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 25, n. 8, p. 1755-1761, 2018.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res.**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

SMITHA, G. R.; TRIPATHY, V. Seasonal variation in the essential oils extracted from leaves and inflorescence of different *Ocimum* species grown in Western plains of India. **Ind. Crops Prod.**, v. 94, p. 52-64, 2014

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from Neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chem. Biodivers.**, v. 8, p. 73-94, 2011.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIAH, U. R. Anticicrobial properties of plant essential oil against human pathogens and their mode of action: An updated review. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, p. 1-21, 2016.

THEANPHONG, O.; MINGVANISH, W.; KIRDMANEE, C. Chemical constituents and biological activities of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome. **BHST**, v. 13, n. 1, p. 06-16, 2015.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalisation of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SILVA, W. P.; MOTTA, A. S.; NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chem. Toxicol.**, v. 50, p. 2668-2674, 2012.

ZHANG, Y.; LIU, X.; WANG, Y.; JIANG, P.; QWUEK, S. Y. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil *against Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Food Control**, v. 59, p. 282-289, 2016.

## 5 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Eugenia uniflora* POR ESTAQUIA: SUBSTRATO, ÉPOCA DE COLETA, ÁCIDO INDOLBUTÍRICO E MÉTODOS DE REJUVENESCIMENTO

### RESUMO

*Eugenia uniflora* é uma espécie que apresenta grande variabilidade fitoquímica, devido principalmente ao seu modo de reprodução, a alogamia. Essa variabilidade inviabiliza a formação de cultivos comerciais. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes condições na propagação vegetativa por estaquia da espécie. Nesta avaliação foram utilizados diferentes tipos de substratos (Tropstrato®, vermiculita e areia), diferentes concentrações de ácido indolbutírico, métodos de rejuvenescimento (poda drástica e miniestaquia) e diferentes épocas de coleta (inverno, verão, outono e inverno) dos propágulos. Nos resultados a maior porcentagem de enraizamento e qualidade do sistema radicial em estacas foram observados em substrato comercial Tropstrato® e que sofreram algum método de rejuvenescimento. Entre os métodos de rejuvenescimento aplicados à espécie, a miniestaquia se foi mais eficiente, alcançando quase 50% de enraizamento, quando coletadas no verão. Estacas provenientes de plantas matrizes que não sofreram nenhum tipo de rejuvenescimento, independente da época de coleta, não enraizaram. Não foram observadas alterações anatômicas entre estacas provenientes de material rejuvenescido e não rejuvenescido. A aplicação de IBA não influenciou no acréscimo de estacas enraizadas, portanto não se recomenda sua aplicação.

Palavras-chave: Pitanguerira. IBA. cofatores de enraizamento. Sazonalidade. anatomia.

## ***Eugenia uniflora* SEEDLING PRODUCTION BY CUTTING: SUBSTRATE, COLLECTION SEASON, AUXINE AND REJUVENATION METHODS**

### ABSTRACT

*Eugenia uniflora* is a species that presents great phytochemical variability which makes the cultivation of this commercial crop unfeasible. Therefore, the objective of this work was to develop a protocol for vegetative propagation of *Eugenia uniflora* by stem cuttings. Substrates (Tropstrato®, vermiculite and sand), indolbutyric acid concentrations, rejuvenation methods (drastic pruning and minicutting) and harvesting times (winter, summer, autumn and winter) of the stems were compared. The highest rooting percentage and quality of the root system in cuttings were obtained when commercial substrate Tropstrato® and with some method of rejuvenation were used. The minicutting was more efficient, reaching almost 50% of rooting when collected in summer. Stem cuttings from plants that did not undergo any kind of rejuvenation, regardless of the time of collection, did not result in root formation. No anatomical changes were observed between cuttings from rejuvenated and non-rejuvenated plant material. The treatment of the stem cuttings with IBA did not result in increase of rooting, therefore the use of this plant regulator is not recommended.

Keywords: Surinan cherry tree; IBA; Rejuvenation; Seasonality; Substrate.

## 5.1 INTRODUÇÃO

*Eugenia uniflora* é uma espécie com grande potencial econômico devido ao seu potencial frutífero (CHAVES, 2013). Nos últimos anos tem despertado grande interesse, principalmente por apresentar em seus frutos e folhas, metabólitos secundários com ações antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, inseticida e anti-helmintica (MOURA et al., 2018), que impulsiona o seu uso, principalmente, pelas indústrias farmacêutica e cosmética.

A espécie apresenta grande variabilidade na composição de bioativos, devido sua principal forma de propagação, a seminal. A propagação sexuada ou por sementes promove segregação de características da planta (MOURA et al., 2007), o que dificulta a seleção de plantas candidatas a formação de pomares comerciais. Com isso, técnicas de propagação assexuada constituem alternativa para promover a uniformidade de características físico-químicas da espécie.

A estaquia convencional e suas técnicas derivadas, como miniestaquia, são as mais utilizadas, devido ao seu baixo custo, por não necessitarem de mão de obra especializada, além de promover em grande quantidade de mudas de boa qualidade em menor tempo. Nessas metodologias são destacados segmentos, estacas, da planta matriz, que são estimulados a formarem raízes adventícias (HARTMANN et al., 2002). Porém, a formação de raízes a partir de estacas é influenciada por diversos fatores internos e externos e suas interações (LATTUADA; SPIER; SOUZA, 2011).

Segundo Hartmann et al. (2002), o substrato apresenta papel fundamental no enraizamento de estacas e na qualidade das raízes. Suas características físico-químicas podem influenciar positiva ou negativamente. A Porosidade influencia na maior aeração e na retenção de água, as quais permitem a manutenção do processo de respiração, fundamental para iniciação e desenvolvimento das raízes, e impede o dessecação da base da estaca.

Os reguladores vegetais, como o ácido indolbutírico (IBA), estimulam o enraizamento adventício em propágulos. A ação destes reguladores e a concentração utilizada dependem da espécie e do estágio de maturação da planta matriz e do propágulo (WENDLING; XAVIER, 2005). As auxinas estimulam o surgimento de primórdios radiciais a partir de regiões meristemáticas, sejam elas já existentes ou provenientes da desdiferenciação de células especializadas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A facilidade no enraizamento de estacas também pode ser influenciada pela época de coleta do material. Segundo Emer, Schaffer e Fior (2018), as variações nas condições ambientais nas diferentes estações do ano podem alterar a fisiologia e o equilíbrio hormonal da planta matriz, fatores estes que influenciam no enraizamento dos propágulos. Além disso, materiais coletados em épocas com maior crescimento vegetativo, geralmente apresentam-se mais herbáceos, favorecendo o aparecimento de raízes adventícias (HARTMANN et al., 2002). A fenologia da espécie, que está relacionada a sazonalidade, também apresenta influência nas taxas de enraizamento. A correlação entre o enraizamento e o estágio fenológico pode estar associada com a disponibilidade de reservas. Em épocas de florescimento e frutificação tais reservas são direcionadas mais à manutenção de estruturas de reprodução (BRAGA et al., 2006; SILVA et al., 2012).

Outro fator determinante no método de estaquia é a idade das plantas matrizes. Plantas matrizes maduras geralmente apresentam maiores dificuldades de enraizamento de estacas. Segundo Dias et al. (2012), as características fisiológica, anatômica e bioquímica destas plantas matrizes se apresentam de maneira diferenciada de plantas matrizes juvenis. Materiais adultos apresentam maior concentração de inibidores e menor de cofatores quando comparados aos materiais jovens. Materiais adultos também podem apresentar barreiras anatômicas como fibras e esclereídes que impedem a emissão de raízes adventícias. Uma forma de minimizar o efeito destas características presentes em plantas adultas é tornar este material maduro em juvenil (rejuvenescimento). No rejuvenescimento podem ser utilizadas algumas técnicas, entre elas a poda drástica e miniestaquia seriada (PEÑA; ZANETTE; BIASI, 2015a; PEÑA; ZANETTE; BIASI, 2015b).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as diferentes técnicas para enraizamento de estacas de *Eugenia uniflora*, utilizando diferentes tipos de substrato, concentrações de IBA, épocas de coleta e métodos de rejuvenescimento.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado nos experimentos 1, 2 e 3 foi coletado na área de plantas medicinais da Estação Experimental da Universidade Federal do Paraná, no município de Pinhais - PR, de plantas com idade que variaram entre 10 e 12 anos de acordo com o ano de coleta (2016, 2017 e 2018). Esta região está localizada a

25°23'30" S e 49°07'30" W e 920m de altitude. O clima é temperado úmido com verão temperado, apresenta precipitação anual de 1400mm, temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, sendo classificado como Cfb no sistema de classificação climática de Köppen (KÖPPEN, 1931).

As estacas e miniestacas foram confeccionadas com 8cm e 5 cm de comprimento, respectivamente, sendo mantidas duas folhas pela metade na porção apical, sendo realizada na base da estaca corte em bisel e reto na porção apical.

As estacas foram imersas em soluções hidroalcoólicas (50%) de ácido indolbutírico (IBA) por 10 segundos.

Nos experimentos 2, 3 e 4 as estacas foram plantadas em tubetes de 53 cm<sup>3</sup> de polipropileno contendo substrato comercial (Tropstrato®).

Em todos os experimentos as estacas foram mantidas por 120 dias em casa de vegetação. Nos experimentos 1, 2 e 3 as estacas foram mantidas na casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, com irrigação intermitente (entre 8 e 19h - aspersão por 15 segundos a cada 30 minutos; e entre 19 e 8h - aspersão por 15 segundos a cada 3 horas). O experimento 4 foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, com irrigação intermitente (temperatura média  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar igual a 85% e irrigação de 1 minuto a cada 15 minutos). Em ambas as casas de vegetação possuem cobertura de plástico agrícola de 150 micras com difusor de luz que permite a passagem de aproximadamente 50% da radiação insidente.

Foram avaliadas a porcentagem de estacas enraizadas (vivas e emitiram raízes de no mínimo 2mm de comprimento), número de raízes por estacas (número de raízes emitidas durante período de permanência em casa de vegetação), comprimento de raízes por estaca (comprimento das três maiores raízes por miniestaca), porcentagem de estacas com calos (vivas, sem raízes, com acúmulo de massa de células indiferenciadas na região basal), porcentagem de estacas vivas (sem formação de raízes e/ou calos), porcentagem de estacas mortas (necrosadas), porcentagem de estacas com retenção de folhas (mantiveram as folhas reduzidas a 50% da área foliar) e porcentagem de estacas com brotos (vivas ou enraizadas que apresentaram a emissão de brotações).

Os resultados de todos os experimentos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ) com auxílio do programa estatístico ASSISTAT versão 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2016).

#### 5.2.1 *Experimento 1: Avaliação do tipo de substrato no enraizamento de estacas semilenhosas de E. uniflora*

As estacas semilenhosas foram confeccionadas a partir de brotações decorrentes de poda drástica a 1,20m das plantas matrizes, realizada em setembro de 2016, com coleta de estacas em dezembro de 2016.

O experimento foi implantado em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (3 x 3), com quatro repetições contendo 10 estacas por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de três concentrações de IBA (0, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup>) e três tipos de substratos (Tropstrato®, vermiculita e areia), totalizando 9 tratamentos.

#### 5.2.2 *Experimento 2: Avaliação do efeito da sazonalidade no enraizamento de estacas semilenhosas de E. uniflora.*

As estacas foram coletadas a partir de brotações anuais de uma planta matriz selecionada entre os meses de março e novembro de 2018.

O experimento foi implantado em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (5 x 4), com quatro repetições contendo 15 estacas por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de cinco concentrações de IBA (0, 500, 1000, 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup>) e quatro épocas de coleta (verão, outono, inverno e primavera de 2018), totalizando 20 tratamentos.

#### 5.2.3 *Experimento 3: Avaliação do efeito de poda drástica no enraizamento de estacas herbáceas de E. uniflora.*

Neste experimento cinco pitangueiras foram podadas a aproximadamente 30 cm do solo em setembro de 2018 e a coleta das brotações epicórmicas realizada em janeiro de 2019.

O experimento foi implantado em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições contendo 15 estacas por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de cinco concentrações de IBA (0, 500, 1000, 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup>).

#### 5.2.4 Experimento 4: Avaliação do enraizamento de miniestacas de *E. uniflora* em diferentes épocas de coleta

Neste experimento de miniestaquia, o jardim clonal foi formado a partir de mudas produzidas por estaquia convencional, oriundas do experimento 1. As mudas foram plantadas em vasos de 3,5L e mantidas a pleno sol com irrigação num intervalo de quatro vezes ao dia, por 6 minutos, e fertirrigação quinzenal (50 mL de solução nutritiva composta por 4 g L<sup>-1</sup> de sulfato de amônio, superfosfato triplo e cloreto de potássio e 1 g L<sup>-1</sup> de FTE BR-12).

O experimento foi implantado em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2 x 5), com quatro repetições contendo 15 estacas por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de duas épocas de coleta das miniestacas formadas (inverno e verão de 2018) e cinco concentrações de IBA (0, 500, 1000, 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup>).

#### 5.2.5 Análises anatômicas das estacas pós-experimento

As análises anatômicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia e Biomecânica Vegetal, no Departamento de Botânica, localizado no Setor de Ciências Biológicas, pertencente à Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR.

Após a avaliação dos Experimentos 2, 3 e 4 foram coletadas 3 amostras de aproximadamente 2 cm da região basal de estacas/miniestacas enraizadas, com calos e apenas vivas, as quais foram fixadas em FAA 50 durante 24 horas sob vácuo (JOHANSEN, 1940) e, posteriormente, após desidratação alcoólica, conservadas em etanol 70% (v/v).

O material previamente armazenado em etanol 70% (v/v) foi seccionado e incluído em historesina (Technovit®). Estes blocos foram fixados em tutores de

madeira. Posteriormente, cortes transversais foram obtidos em micrótomo rotativo (Olympus® CUT 4055) com espessura de 12 µm (KRAUS; ARDUIN, 1997).

Os cortes foram aderidos nas lâminas e submetidas a coloração com o colorante azul de toluidina a 0,05% (pH = 4,0).

Foram confeccionadas 5 lâminas com aproximadamente 20 cortes por experimento. Para as análises de efeito sazonalidade foram confeccionadas lâminas para cada época de coleta. Em seguida, as lâminas foram analisadas e documentadas por meio de fotomicrografias em fotomicroscópio Zeiss com câmera digital Sony Cyber-shot P72 acoplada.

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Experimento 1 não ocorreu interação entre o tipo de substrato e as concentrações de IBA (TABELA 5.1). As variáveis estacas com brotos e com calos não foram analisadas estatisticamente pois seus dados não foram homogêneos. A única variável na qual foi observada influência das concentrações de IBA foi estacas vivas. Com o aumento das concentrações de IBA observou-se uma tendência de menor sobrevivência das estacas. Para o fator tipo de substrato nota-se uma melhor qualidade do sistema radicial nas estacas submetidas ao substrato comercial Tropstrato®, quando se compara os valores de comprimento de raízes. A areia foi o tipo de substrato com as menores médias.

A influência do tipo de substrato no processo rizogênico de estacas está diretamente associada a sua porosidade, que influencia na aeração e na retenção de água (HARTMANN et al., 2002), sendo indicados para muitas espécies vermiculita e Tropstrato®. A areia apresenta dificuldade no enraizamento de estacas devido, principalmente, a sua desuniformidade de retenção e distribuição de água (LIMA; OHASHI, 2016). Pio et al. (2005) analisando características físicas de diferentes tipos de substrato, observaram que Tropstrato® e vermiculita apresentam porosidades similares (35,17 e 32,70%), indicando que este aspecto não foi o responsável pela diferença observada entre os dois substratos.

TABELA 5.1 - ESTACAS SEMILENHOSAS ENRAIZADAS, NÚMERO E COMPRIMENTO DE RAÍZES POR ESTACA, ESTACAS VIVAS, MORTAS, COM FOLHAS, COM BROTOS E COM CALOS DE *E. uniflora* EM FUNÇÃO DE DIFERENTES SUBSTRATOS E CONCENTRAÇÕES DE IBA (ABRIL/2016).

ESTACAS ENRAIZADAS (%)					NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA <sup>NS</sup>				
Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média	Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média
	0	1000	2000			0	1000	2000	
Tropstrato®	20,00	12,00	16,00	16,00a	Tropstrato®	1,42	0,27	0,85	0,85a
Vermiculita	10,00	4,00	6,00	6,67a	Vermiculita	0,60	0,20	0,60	0,47a
Areia	6,00	6,00	6,00	6,00a	Areia	0,90	0,60	0,27	0,59a
Média	12,00a	7,33a	9,33a		Média	0,97a	0,36a	0,57a	
CV% = 150,04					CV% = 124,69				
COMPRIMENTO DE RAÍZ POR ESTACA (cm)					ESTACAS VIVAS (%)				
Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média	Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média
	0	1000	2000			0	1000	2000	
Tropstrato®	6,68	1,53	5,15	4,45a	Tropstrato®	18,00	12,00	6,00	12,00a
Vermiculita	1,20	0,65	0,65	0,83b	Vermiculita	38,00	18,00	12,00	22,67a
Areia	0,43	0,95	0,33	0,57b	Areia	14,00	26,00	16,00	18,67a
Média	2,77a	1,04a	2,04a		Média	23,33a	18,67ab	11,33b	
CV% = 42,69					CV% = 70,66				
ESTACAS MORTAS (%) <sup>NS</sup>					ESTACAS COM FOLHAS (%) <sup>NS</sup>				
Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média	Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média
	0	1000	2000			0	1000	2000	
Tropstrato®	50,00	74,00	68,00	64,00a	Tropstrato®	46,00	22,00	28,00	32,00a
Vermiculita	50,00	78,00	76,00	68,00a	Vermiculita	32,00	16,00	14,00	20,67a
Areia	74,00	68,00	78,00	73,33a	Areia	22,00	30,00	12,00	21,33a
Média	58,00a	73,33a	74,00a		Média	33,33a	22,67a	18,00a	
CV% = 33,99					CV% = 85,36				
ESTACAS COM BROTOS (%)*					ESTACAS COM CALOS (%)*				
Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média	Substrato	IBA (mg L <sup>-1</sup> )			Média
	0	1000	2000			0	1000	2000	
Tropstrato®	10,00	0,00	6,00	5,33	Tropstrato®	12,00	2,00	10,00	8,00
Vermiculita	0,00	0,00	0,00	0,00	Vermiculita	2,00	0,00	6,00	2,67
Areia	0,00	0,00	0,00	0,00	Areia	6,00	0,00	0,00	2,00
Média	3,33	0,00	2,00		Média	6,67	0,67	5,33	

FONTE: O autor (2019)

NOTA: Médias seguidas das mesmas letras não diferenciam estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. NS = não significativo; CV = Coeficiente de variação; \* = Análise de variância não realizada;

A presença e o teor de nutrientes essenciais é importante na escolha do substrato para a produção de mudas por estaquia (PAULUS; PAULUS, 2007; ALMEIDA et al., 2017). Pereira e Peres (2016) salientam a influência da nutrição na sobrevivência e no enraizamento adventício de estacas. Segundo os autores, macro e micronutrientes são essenciais na biossíntese de macromoléculas e em outros

processos fisiológicos importantes no processo rizogênico e na qualidade do sistema radicial. O substrato comercial Tropstrato® apresenta macro e micronutrientes de liberação lenta e turfa, diferentemente da vermiculita que é considerado um substrato inerte. O período entre a implantação dos experimentos e a sua avaliação, 120 dias, pode ter exaurido as reservas presentes nas estacas influenciando na menor porcentagem de enraizamento. Portanto, a presença de nutrientes e matéria orgânica no substrato comercial podem ter proporcionado os melhores resultados na qualidade do sistema radicial formado.

No Experimento 2, efeito da sazonalidade e de concentrações de IBA no enraizamento de estacas de *E. uniflora* (TABELA 5.2), também não ocorreu interação entre os fatores analisados em nenhuma das variáveis. Não foi observado, em nenhuma época de coleta, enraizamento nas estacas. Porém, foi observada a formação de calos em maiores quantidades no verão e no inverno. Geralmente, em espécies de difícil enraizamento, a formação de calos antecede o aparecimento de raízes (BERNARDES Jr.; VALE; SOUSA, 2017), indicando que a permanência por mais tempo em casa de vegetação poderia acarretar no enraizamento das estacas. A diferença na porcentagem de calos observada entre as estações de inverno, verão e outono pode estar associada a maior formação de brotações nesta última estação. O direcionamento de reservas da estaca para a formação de brotos pode influenciar negativamente a formação de calos e/ou raízes, que dependem destas reservas para que ocorram divisões celulares e se desenvolvam (PEREIRA et al., 2017; LIMA; OHASHI; SILVEIRA, 2018).

Outras variáveis influenciadas pela sazonalidade foram a permanência de folhas, porcentagem de estacas vivas e mortas após 120 dias em casa de vegetação. As maiores médias foram observadas em estacas coletadas no outono e as menores na coleta de primavera. As variáveis estacas com calos, com brotações e com folhas de material coletado na primavera não foram incluídas nas análises estatísticas por apresentarem variâncias iguais a zero.

Quanto à influência das diferentes concentrações de IBA não foram observadas diferenças significativas em nenhuma das variáveis avaliadas.

TABELA 5.2 - ESTACAS SEMILENHOSAS COM CALOS, COM BROTAÇÕES, COM FOLHAS, VIVAS E MORTAS DE *E. uniflora*, EM FUNÇÃO DE DIFERENTES ÉPOCAS DE COLETA E CONCENTRAÇÕES DE IBA.

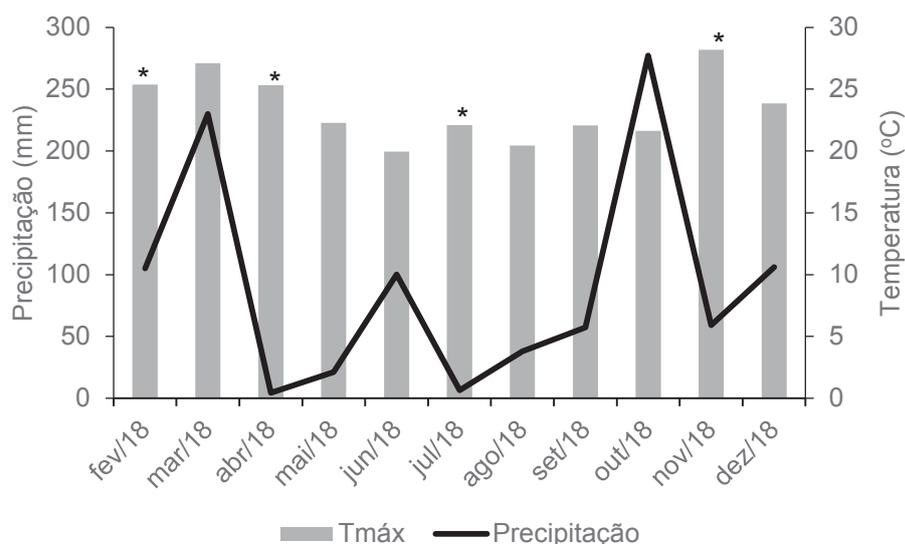
<b>ESTACAS COM CALOS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
Verão/ 2018	21,67	13,34	6,67	6,67	8,34	11,33ab
Outono/ 2018	6,67	6,67	5,00	3,33	3,34	5,00b
Inverno/ 2018	16,82	19,32	4,55	17,50	12,50	14,14a
Primavera/ 2018*	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média	11,29a	9,83a	4,06a	6,88a	6,05a	
CV% = 83,40						
<b>ESTACAS COM BROTAÇÕES (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
Verão/ 2018	8,33	8,33	5,00	6,67	1,67	6,00b
Outono/ 2018	31,67	21,67	23,34	16,67	23,33	23,34a
Inverno/ 2018	4,77	7,50	9,09	10,00	10,00	8,27b
Primavera/ 2018	1,67	3,34	1,67	1,67	1,67	2,00b
Média	11,61a	10,21a	9,78a	8,75a	9,17a	
CV% = 88,83						
<b>ESTACAS COM FOLHAS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
Verão/ 2018	26,67	23,34	21,67	18,33	13,33	20,67b
Outono/ 2018	26,67	41,67	35,00	36,67	25,00	33,00a
Inverno/ 2018	9,55	5,00	4,54	20,00	7,50	9,32c
Primavera/ 2018*	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média	15,72a	17,50a	15,30a	18,75a	11,46a	
CV% = 65,07						
<b>ESTACAS VIVAS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
Verão/ 2018	55,00	71,67	65,00	60,00	38,33	58,00a
Outono/ 2018	65,00	60,00	68,34	80,00	61,67	67,00a
Inverno/ 2018	28,86	38,86	53,18	35,00	27,50	36,68b
Primavera/ 2018	3,33	3,34	1,67	3,33	3,34	3,00c
Média	38,05a	43,47a	47,05a	44,58a	32,71a	
CV% = 35,99						
<b>ESTACAS MORTAS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
Verão/ 2018	23,34	15,00	28,34	33,33	53,33	30,67c
Outono/ 2018	28,33	33,33	26,67	16,67	35,00	28,00c
Inverno/ 2018	54,32	41,82	42,27	55,00	60,00	50,6.8b
Primavera/ 2018	96,67	96,67	98,33	96,67	96,67	97,00a
Média	50,67a	46,71a	48,90a	50,42a	61,25a	
CV% = 33,61						

FONTE: O autor (2019)

NOTA: Médias seguidas com as mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV = Coeficiente de variação; \* = Dados não utilizados na ANOVA;

Em estacas coletadas na primavera foi observado uma alta taxa de mortalidade (97,00%) (TABELA 5.2). Na época de coleta do material, novembro de 2018, foram registradas altas temperaturas e baixa precipitação (FIGURA 5.1). Segundo Ventura, Soto e Otiniano (2019), plantas submetidas a estresse térmico e hídrico sofrem alterações bioquímicas, fisiológicas e metabólicas. Plantas submetidas a estes tipos de estresses podem apresentar diminuição na taxa fotossintética e aumento na respiração (TAIZ; ZEIGER, 2009). O desbalanço entre estes dois processos fisiológicos pode provocar consumo das reservas das plantas matrizes e consequentemente influenciar na menor sobrevivência das estacas.

FIGURA 5.1: MÉDIAS DAS TEMPERATURAS MÁXIMAS (°C) E ACÚMULO DE PRECIPITAÇÃO (mm) DURANTE O PERÍODO DE COLETAS DO MATERIAL SUBMETIDO AO EXPERIMENTO DE AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SAZONALIDADE NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR ESTAQUIA. (\*) MESES DE COLETA.



FONTE: SIMEPAR

A falta de enraizamento das estacas pode estar relacionado com a idade ontogenética da planta matriz. As estacas utilizadas neste experimento eram provenientes de brotações anuais de plantas matrizes com aproximadamente 11 anos. O acúmulo de inibidores e a diminuição de cofatores de enraizamento geralmente são observados com o aumento da idade de plantas (LATTUADA; SPIER; SOUZA, 2011), podendo influenciar de forma negativa no enraizamento de estacas provenientes de plantas mais velhas.

Nas estacas oriundas de brotações após poda drástica a 30 cm do solo (Experimento 3) não foram encontradas diferenças significativas em nenhuma das variáveis avaliadas quando submetidas a diferentes concentrações de IBA utilizadas no experimento (TABELA 5.3).

Apesar de não significativas os resultados das variáveis estacas enraizadas (EE), número de raízes (NR) e comprimento de raiz (CR) indicam que a poda drástica estimula a emissão de raízes adventícias e uma boa formação do sistema radicial quando comparados aos resultados apresentados no Experimento 2 (brotações anuais). Estes resultados corroboram com os apresentados por Peña-Peña (2014), comparando o potencial rizogênico de estacas de pitangueira provenientes de brotações anuais e de podas. Segundo o autor, a poda induz a emissão de brotações com características juvenis, que contem maiores chances de enraizamento.

TABELA 5.3 - ESTACAS HERBÁCEAS ENRAIZADAS (EE), NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES POR ESTACA (CR), ESTACAS VIVAS (EV), ESTACAS COM FOLHAS (EF) E ESTACAS MORTAS (EM) DE *E. uniflora*, PROVENIENTES DE PODA DRÁSTICA A 30 CM DO SOLO, EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA (JANEIRO/ 2019) .

Variáveis	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					CV%
	0	500	1000	2000	3000	
<b>EE (%)</b> <sup>NS</sup>	11,67	21,67	25,00	30,00	21,67	50,71
<b>NR</b> <sup>NS</sup>	1,25	1,13	1,29	1,33	1,15	29,13
<b>CR (cm)</b> <sup>NS</sup>	5,05	4,47	4,16	4,33	4,68	53,04
<b>EV (%)</b> <sup>NS</sup>	55,00	51,67	48,34	51,67	48,33	28,59
<b>EF (%)</b> <sup>NS</sup>	50,00	53,33	61,67	61,67	43,34	39,49
<b>EM (%)</b> <sup>NS</sup>	33,33	26,67	26,67	18,33	30,00	57,64

FONTE: O autor (2019)

LEGENDA: CV = coeficiente de variação; NS = não significativo.

No Experimento 4 (avaliação do efeito de épocas de coleta e concentrações de IBA em miniestacas de *E. uniflora*), foi observado interação entre os dois fatores nas variáveis estacas enraizadas e estacas vivas. As variáveis número de raízes e estacas com calos não foram analisadas estatisticamente pois suas variâncias foram iguais a zero. Neste experimento foram observados as maiores médias de enraizamento na coleta de verão sem a aplicação do regulador vegetal (TABELA 5.4).

TABELA 5.4 - VALORES DE ENRAIZAMENTO, NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA, COMPRIMENTO DE RAÍZES POR ESTACA, PROPÁGULOS VIVOS, COM FOLHAS, COM CALOS E MORTOS EM FUNÇÃO DA ÉPOCA DE COLETA E A APLICAÇÃO DE IBA EM MINIESTACAS DE *E. uniflora*.

<b>ESTACAS ENRAIZADAS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
INVERNO	10,00bA	7,50bA	12,50aA	12,50aA	15,00aA	11,50
VERÃO	48,33aA	29,17aAB	23,34aAB	10,84aB	21,67aAB	26,67
Média	29,17	18,33	17,92	11,67	18,33	CV% = 69,48
<b>NÚMERO DE RAÍZES*</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
INVERNO	0,75	0,75	0,50	0,75	0,83	0,72
VERÃO	1,00	1,00	1,00	1,00	0,75	0,95
Média	0,88	0,88	0,75	0,88	0,79	
<b>COMPRIMENTO DE RAÍZES (cm)<sup>NS</sup></b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
INVERNO	0,78	0,58	0,76	0,31	0,88	0,66
VERÃO	0,84	0,58	0,76	0,73	0,34	0,65
Média	0,81	0,58	0,76	0,52	0,61	CV% = 15,91
<b>ESTACAS VIVAS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
INVERNO	70,00aA	65,00aA	62,50aA	65,00aA	65,00aA	65,50
VERÃO	41,67bC	45,00bBC	56,67aAB	73,33aA	68,33aAB	59,99
Média	55,83	55,00	59,58	69,17	66,67	CV% = 19,99
<b>ESTACAS COM FOLHAS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
INVERNO	55,00	52,50	57,50	55,00	52,50	54,50 b
VERÃO	83,34	75,83	74,99	76,67	79,17	78,00 a
Média	69,17 a	64,17 a	66,25 a	65,83 a	65,83 a	CV% = 17,16
<b>ESTACAS COM CALOS (%)*</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
INVERNO	2,50	2,50	0,00	0,00	0,00	1,00
VERÃO	0,00	5,84	6,67	2,50	0,00	3,00
Média	1,25	4,17	3,34	1,25	0,00	
<b>ESTACAS MORTAS (%)</b>						
Estação	IBA (mg L <sup>-1</sup> )					Média
	0	500	1000	2000	3000	
INVERNO	17,50	25,00	25,00	22,50	20,00	22,00 a
VERÃO	10,00	22,50	13,34	13,33	10,00	13,83 b
Média	13,75 a	23,75 a	19,17 a	17,92 a	15,00 a	CV% = 62,47

FONTE: O autor (2019)

NOTA: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha e minúscula na coluna não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

LEGENDA: CV = coeficiente de variação; NS = não significativo; \* = Análise de variância não realizada

Quando comparados os fatores individualmente, em nenhuma das variáveis se encontrou diferença significativa quando as estacas foram submetidas as diferentes concentrações de IBA.

Na coleta de verão foi observado os melhores valores, com exceção à variável estacas vivas. Este resultado pode ter sido influenciado pelo maior média de estacas enraizadas e com calos, uma vez que estacas que apresentam raízes e/ou calos não são contabilizadas nesta variável.

É importante salientar que as plantas do minijardim receberam quinzenalmente fertirrigação, reforçando a importância da nutrição da planta matriz e dos propágulos no processo rizogênico (DIAS et al., 2012).

Nos Experimentos 1, 3 e 4 foram adotadas técnicas indicadas na obtenção de tecidos rejuvenescidos, poda drástica e miniestaquia seriada. Os resultados obtidos nestes experimentos foram numericamente maiores aos resultados observados em estacas oriundas de matrizes que não sofreram nenhum tratamento que visasse o rejuvenescimento de tecidos (Experimento 2) (TABELA 5.5).

TABELA 5.5 - COMPARAÇÃO DAS PORCENTAGENS DE ENRAIZAMENTO OBSERVADOS NOS EXPERIMENTOS DE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR ESTAQUIA EM *E. uniflora*.

Experimento	Fatores (número de tratamentos)	Material vegetal	Enraizamento (%)
1	Substrato (3) x IBA (3)	Brotações epicórmicas (poda 120cm)	20,00
2	Época de coleta (4) x IBA (5)	Brotações anuais	0,00
3	IBA (5)	Brotações epicórmicas (poda 30cm)	22,02
4	Época de coleta (2) x IBA (5)	Minijardim	48,33

FONTE: O autor (2019)

Resultados semelhantes foram obtidos em outras espécies submetidas a métodos de rejuvenescimento visando a propagação vegetativa por estaquia. *Vochysia bifalcata* (Vochysiaceae) quando submetida a estaquia convencional, diretamente da planta matriz, não apresentou enraizamento (DANNER et al., 2010), porém quando a espécie foi submetida a métodos de rejuvenescimento, como a poda drástica, foram obtidos 81% de enraizamento (RICKLI et al., 2015). Bitencourt et al. (2009) comparando dois tipos de estacas (estacas de brotações anuais e estacas de rebrota) de erva-mate, mostraram que o material rejuvenescido por poda apresentou

as maiores porcentagens de enraizamento (65,50%) em relação ao proveniente de brotações anuais (8,50%). Wendling, Stuepp e Zuffellato-Ribas (2016) trabalharam com propágulos provenientes de minijardins clonais de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) e obtiveram 53,7% de enraizamento nas miniestacas, valores superiores do enraizamento de estacas provenientes de brotações de galhos que não ultrapassaram a 28% de enraizamento observados por Wendling e Brondani (2015).

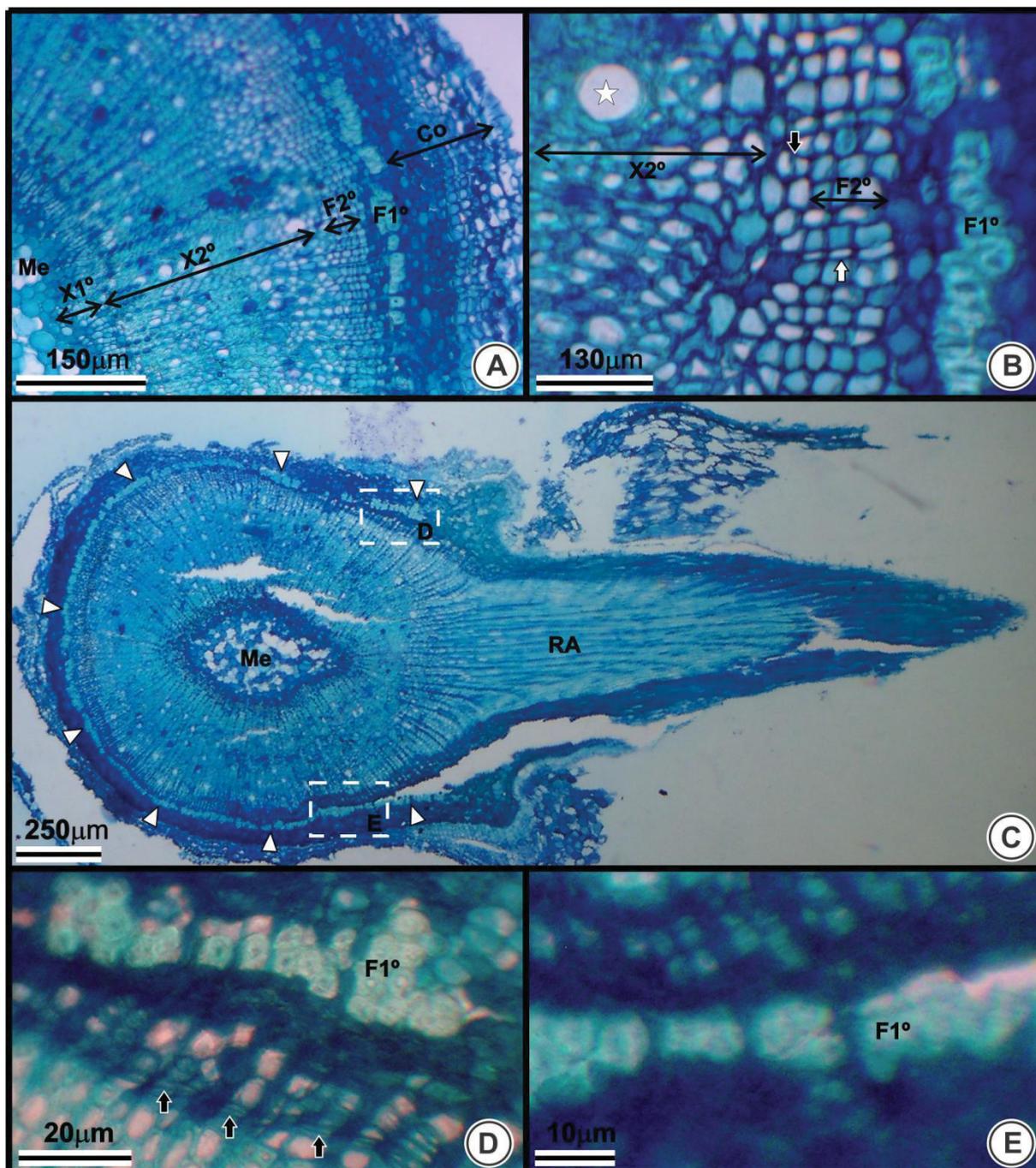
Portanto, é evidente que técnicas que permitam o rejuvenescimento são eficientes no processo rizogênico para espécies de difícil enraizamento como *E. uniflora*. As técnicas de rejuvenescimento estimulam a formação de tecidos com características juvenis a partir de plantas matrizes adultas. Segundo Wendling, Trueman e Xavier (2014), estas técnicas permitem alterações nestes tecidos que favorecem a formação de raízes de estacas oriundas de material adulto.

Os métodos de rejuvenescimento induzem uma alteração no balanço hormonal, que estimulam novas brotações. Os novos brotos apresentam maiores níveis de auxinas, cofatores de enraizamento e menores níveis de inibidores de crescimento, favorecendo desta forma a maior porcentagem de enraizamento (RICKLI et al., 2015; LATOH et al., 2018). Segundo Dias et al. (2015) e Rickli et al. (op. cit.), além de mudanças fisiológicas que favorecem o enraizamento de estacas provenientes de material rejuvenescido, também podem ser observadas alterações anatômicas, como a redução de lignificação e o aumento na atividade cambial.

Nas Figuras 5.2, 5.3 e 5.4 são apresentados os resultados da análise anatômica das estacas após 120 dias a instalação dos experimentos.

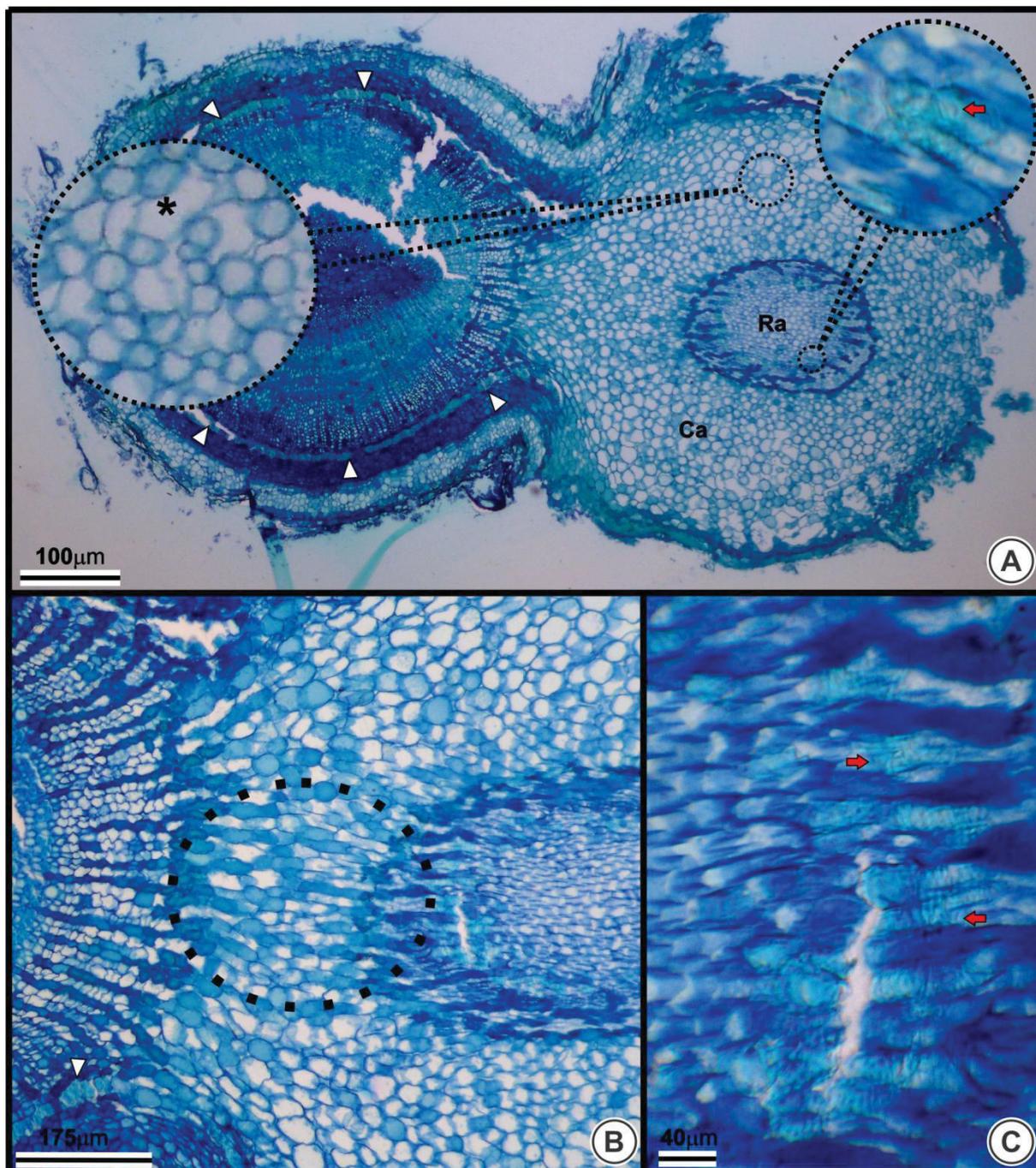
Em todos os tratamentos, o câmbio vascular encontra-se em atividade: poda drástica (FIGURAS 5.2A e 5.2B); miniestaquia (não documentado) e brotações anuais (FIGURAS 5.4A e 5.4B). A atividade do câmbio vascular, segundo Medrado, Appezzato-da-Glória e Costa (1995), favorece a proliferação de células parenquimáticas, que apresentam alto grau de desdiferenciação, possibilitando a formação de calos e de raízes. Porém, apesar da atividade do câmbio, o enraizamento foi nulo nas estacas provenientes de brotações anuais coletadas nas quatro estações e relativamente baixa nos outros Experimentos.

FIGURA 5.2: ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS PROVENIENTES DE BROTAÇÕES EPICÓRMICAS DE PODA DRÁSTICA (30 cm) DE *E. uniflora* (SECÇÕES TRANSVERSAIS). A: CRESCIMENTO SECUNDÁRIO; B: CÂMBIO VASCULAR; C: ESTACA ENRAIZADA; D e E: FLOEMA PRIMÁRIO LIGNIFICADO. Co = CÓRTEX; F1° = FLOEMA PRIMÁRIO; F2° = FLOEMA SECUNDÁRIO; X2° = XILEMA SECUNDÁRIO; X1° = XILEMA PRIMÁRIO; Me = MEDULA; SETA PRETA = CÂMBIO VASCULAR; ESTRELA = ELEMENTO DE VASO; SETA BRANCA = RAIOS DO FLOEMA; RA = RAÍZ; CABEÇA DE SETA BRANCA = ANEL DE FIBRAS PERICÍCLICAS.



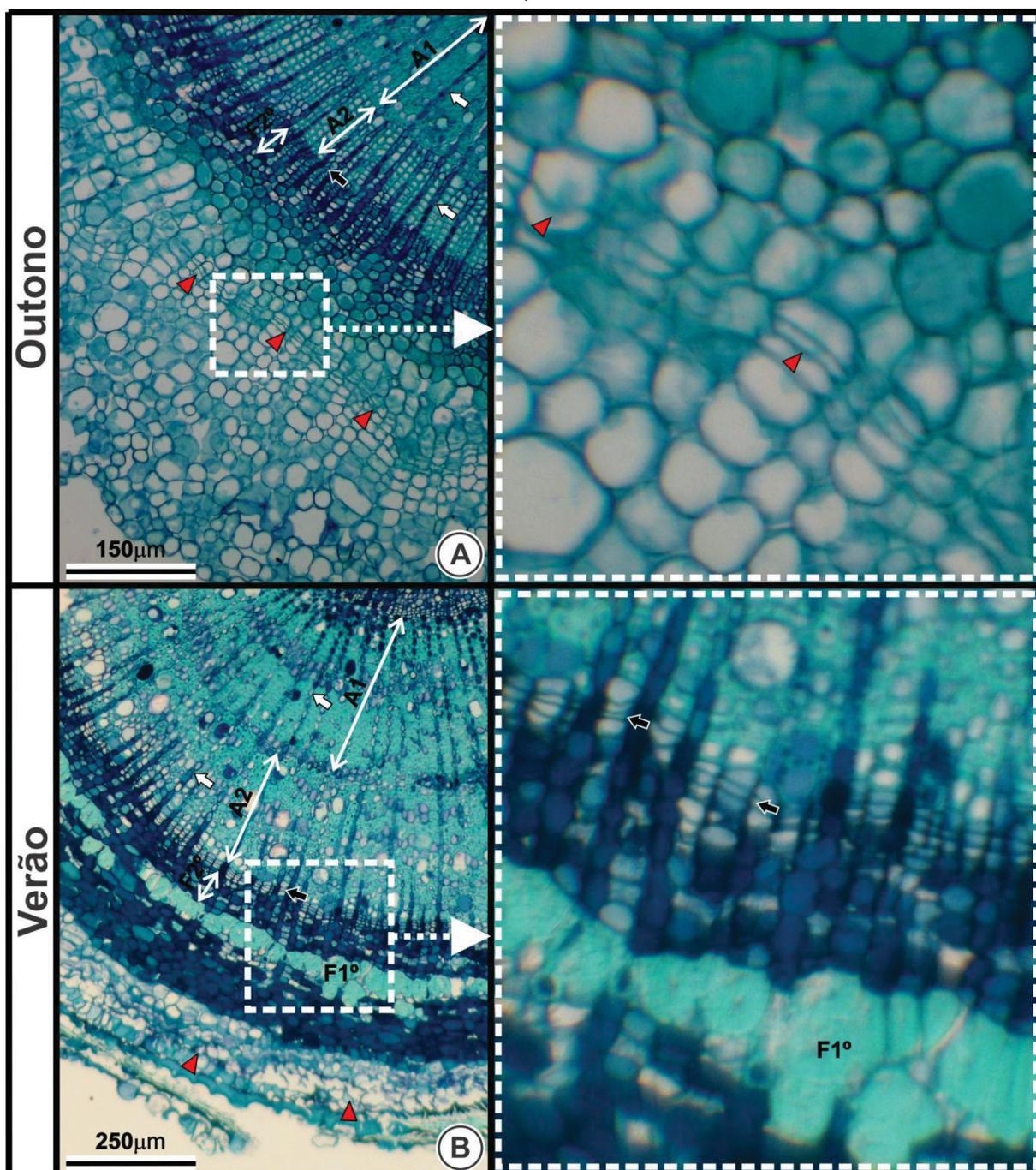
FONTE: O autor (2019)

FIGURA 5.3: MINIESTACAS CAULINARES DE *E. uniflora* (SECÇÕES TRANSVERSAIS). A: ESTACA COM CALO E RAÍZ, EM DESTAQUE DETALHES DO CALO E DA RAÍZ; B: LIGAÇÃO ENTRE A RAÍZ E CILINDRO VASCULAR; C: ESPESSAMENTO DA PAREDE CELULAR DE ELEMENTOS DE CONDUÇÃO DO XILEMA DA RAÍZ. (\*) = ESPAÇO INTERCELULAR; CABEÇA DE SETA BRANCA = ANEL DE FIBRAS PERICÍCLICAS; Ca = CALO; Ra = RAÍZ; SETA VERMELHA = ELEMENTOS DE CONDUÇÃO DO XILEMA DA RAÍZ.



FONTE: O autor (2019)

FIGURA 5.4: ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS PROVENIENTES DE BROTAÇÕES ANUAIS DE *E. uniflora* (SECÇÕES TRANSVERSAIS) A: FELOGÊNIO SE DIFERENCIANDO NO CÓRTEX; B: FLOEMA PRIMÁRIO LIGNIFICADO INDICANDO UM ESTÁDIO MAIS AVANÇADO DO CRESCIMENTO SECUNDÁRIO. A1 E A2 = XILEMA SECUNDÁRIO, ANEIS DE CRESCIMENTO; SETA BRANCA = RAIOS XILEMÁTICOS; SETA PRETA = CÂMBIO VASCULAR; CABEÇA DE SETA VERMELHA = FELOGÊNIO; F1° = FLOEMA PRIMÁRIO; F2° = FLOEMA SECUNDÁRIO.



FONTE: O autor (2019)

Na Figura 5.2C, observa-se a formação da raiz de forma direta a partir do câmbio vascular. O que também pode ser concluído com as observações realizadas na Figura 5.3. Na Figura 5.3A evidencia-se a formação da raiz através do calo, o que poderia nos indicar crescimento indireto. Porém, na Figura 5.3B é possível ver um alongamento das células entre a raiz e o caule, demonstrando que a raiz tenha tido uma provável origem no cilindro vascular (a partir do câmbio), ou seja, também tem origem direta.

A análise anatômica também permitiu observar crescimento secundário nas estacas, caracterizado pela presença de xilema e floema secundários (FIGURAS 5.2A, 5.2B, 5.4A e 5.4B). Também foi observada a lignificação do floema primário (FIGURAS 5.2, 5.3A e 5.4B). A lignificação do floema primário, segundo Spicer e Groover (2010), leva a sua inativação e é uma característica também evidente em caules que possuem crescimento secundário estabelecido. A lignificação do floema primário forma um anel contínuo de fibras pericíclicas ao redor de todo o caule.

No presente trabalho, tanto os propágulos provenientes de plantas que não foram submetidas a métodos de rejuvenescimento quanto aqueles oriundos de plantas que sofreram tal estímulo, apresentaram este anel de fibras contínua ao redor de todo o caule. Na literatura é comum fazer uma associação direta entre a presença de um anel de fibras pericíclicas com a não formação de raízes adventícias (MAYER; BIASI; BONA, 2006; LIMA et al, 2011). Porém, é visto que tal estrutura não foi capaz de impedir a emissão de raízes em estacas de plantas rejuvenescidas (FIGURA 5.2C e 5.3A) indicando que o processo rizogênico não ocorreu nas estacas oriundas de plantas sem rejuvenescimento por motivos bioquímicos e/ou fisiológicos.

O processo rizogênico tem grande influência da concentração de fitohormônios, açúcares, proteínas e compostos fenólicos (FERRIANI; ZUFFELLATO-RIBAS; WENDLING, 2010). Segundo os autores, alterações nas quantidades destes compostos em diferentes fases de desenvolvimento de plantas matrizes acarretam maiores ou menores taxas de enraizamento de propágulos provenientes destes materiais. Como os métodos de rejuvenescimento visam a reversão do estágio adulto para o juvenil, alterações bioquímicas e fisiológicas são esperadas, aumentando assim a taxa de enraizamento.

#### 4.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que o trabalho foi realizado, foi possível concluir que:

- Plantas matrizes rejuvenescidas promovem a formação de propágulos mais responsivos ao processo de enraizamento;
- A qualidade do sistema radicial em estacas de *E. uniflora* apresenta maiores médias com a utilização do substrato comercial Tropstrato®;
- A aplicação de IBA não é necessária para a obtenção de enraizamento das estacas e miniestacas da espécie;
- Não há diferença antômica entre o material rejuvenescido e não rejuvenescido;
- As maiores médias de enraizamento ocorrem em miniestacas coletadas no verão.

#### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. P. N.; LEITE, G. A.; MENDONÇA, V.; CUNHA, P. S. C. F.; ARRAIS, I. G.; TOSTA, M. S. Concentrações de AIB e substratos no enraizamento e vigor de estacas lenhosas de cajaraneira. **Rev. Cienc. Agrar.**, v. 60, n. 1, p. 11-18, 2017.

BERNARDES Jr, E. J.; VALE, S. R.; SOUSA, C. M. Indução ao enraizamento de estacas de *Capsicum baccatum* l. var. pendulum com ácido indolbutfírico. **Encicl. Biosf.**, v. 14 n. 25; p. 796-805, 2017.

BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 11, n. 3, p. 277-281, 2009.

BRAGA, M. F.; SANTOS, E. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUSA, A. A. T. C.; FALEIRO, F. G.; REZENDE, L. N.; JUNQUEIRA, K. F. Enraizamento de estacas de três espécies silvestres de *Passiflora*. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 28, n. 2, p. 284-288, 2006.

CHAVES, M. A.; BARRETO, I. M. A.; REIS, R. C.; KADAM, D. M. Physicochemical and sensory properties of purple Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) foams. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 48, p. 1688–1697, 2013.

DANNER, M. A.; GUBERT, C.; TAGLIANI, M. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Estaquia semilenhosa de *Vochysia bifalcata*. **Sci. Agrar.**, v. 11, n. 6, p. 487-491, 2010.

DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesq. Flor. Bras.**, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.

DIAS, P. C.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; FÉLIX, G. A.; PIRE, I. E. Resgate vegetativo de árvores de *Anadenanthera macrocarpa*. **CERNE**, v. 21, n. 1, p. 83-89, 2015.

EMER, A. A.; SCHAFER, G.; FIOR, C. S. Cutting from *Campomanesia aurea* O. Berg (Myrtaceae): The collection time of propagules and the effects of auxin. **Rev. Bras. Cienc. Agrar.**, v. 13, n. 1, 2018.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. Miniestaquia aplicada a espécies florestais. **Rev. Agroambiente on-line**, v. 4, n. 2, p. 102-109, 2010.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVEIS, JR. F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 7<sup>a</sup> ed., New Jersey: Prentice-Hall, 2002.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Co. 1940.

KÖPPEN, W. **Grundriss Der Klimakunde**. Berlin: W. Guyter, 1931. 390p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

LATOH, L. P.; DALLAGRANA, J. F.; PORTES, D. C.; MAGGIONI, R. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa via miniestaquia caulinar seriada e produtividade de minijardim de espécies de *Tibouchina* spp. **Rev. Elet. Cient.**, v. 4, n. 3, p. 343-357, 2018.

LATTUADA, D. S.; SPIER, M.; SOUZA, P. V. D. Pré-tratamento com água e doses de ácido indolbutírico para estaquia herbácea de pitangueiras. **Ciênc. Rural**, v. 41, n. 12, p. 2073-2079, 2011.

LIMA, C. C.; OHASHI, S. T. Substrato no enraizamento de estacas provenientes de mudas de *Schizolobium parahyba* var. *Amazonicum*. **Encicl. Biosf.**, v. 13, n. 23, 2016.

LIMA, C. C.; OHASHI, S. T.; SILVEIRA, A. S. Efeito de diferentes concentrações de aib e procedências geográficas no enraizamento de estacas de paricá. **Ciênc. Florestal**, v. 28, n. 3, p. 1282-1292, 2018.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

MAYER, J. L. S.; BIASI, L. A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta bot. bras.**, v. 20, n. 3, p. 563-568, 2006.

MEDRADO, M. J. S.; APPEZZATO-DA-GIÓRIA, B.; COSTA, J. D. Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução de enraizamento. **Sci. Agric.**, v. 52, n. 1, p. 89-95, 1995.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; FIGUEIREDO, R. W.; PAIVA, J. R. Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 38, n. 1, p. 52-57, 2007.

MOURA, G. S.; OLIVEIRA, I. J.; BONOMEL, L. T.; FRANZENER, G. *Eugenia uniflora* L.: potential uses as a bioactive plant. **Arq. Inst. Biol.**, v.85, P. 1-9, 2018.

PAULUS, D.; PAULUS, E. Efeito de substratos agrícolas na produção de mudas de hortelã propagadas por estaquia. **Hortic. Bras.**, v. 25, n. 4, p. 594-597, 2007.

PEÑA-PEÑA, M. L. **Propagação vegetativa de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) por estaquia e miniestaquia**. 2014. Tese (Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2014.

PEÑA, M. L.P.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Miniestacas a partir de minicepas originadas por enxertia de pitangueira adulta. **Com. Sci.**, v. 6, n. 3, p. 297-306, 2015a.

PEÑA, M. L. P.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de pitangueira. **Semina: Ciênc. Agrár.**, v. 36, n. 5, p. 3055-3068, 2015b.

PEREIRA, F. B.; PERES, F. S. B. Nutrição e enraizamento adventício de plantas lenhosas. **Pesq. Flor. Bras.**, v. 36, n. 87, p. 319-326, 2016.

PEREIRA, L. D.; COSTA, M. L.; PINTO, J. F. N.; ASSUNÇÃO, H. F.; REIS, E. F.; SILVA, D. F. P. Propagação de gabirobeiras via estaquia associada ao ácido indolbutírico. **Rev. Bras. Agropec. Sust.**, v. 7, n. 1, p. 19-25, 2017.

PIO, R.; ARAÚJO, J. P. C.; BASTOS, D. C.; ALVES, A. S. R.; ENTELMANN, F. A.; SCARPARE FILHO, J. A.; MOURÃO FILHO, F. A. A. Substratos no esraizamento de estacas herbáceas de figueira oriundas de desbrota. **Ciênc. Agrotec.**, v. 29, n. 3, p. 604-609, 2005.

RICKLI, H. C.; BONA, C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Origem de brotações epicórmicas e aplicação de ácido indolilbutírico no enraizamento de estacas de *Vochysia bifalcata* Warm. **Ciênc. Florestal**, v. 25, n. 2, p. 385-393, 2015.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Sftware Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res.**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; PIO, R.; ZAMBON, C. R.; OLIVEIRA, D. L. Enraizamento de estacas semilenhosas de cultivares de oliveira. **Bragantia**, v. 71, n. 4, p. 488-492, 2012.

SPICER, R.; GROOVER, A. Evolution of development of vascular cambia and secondary growth. **New Phytologist.**, v. 186, p. 577-592, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre, 2009.

VENTURA, R. B.; SOTO, V. M.; OTINIANO, A. J. Efeito do déficit hídrico e do aumento de temperatura sobre variáveis produtivas fisiológicas e bioquímicas do "cacao" *Theobroma cacao* L. **Arnaldoa**, v. 26, n. 1, p. 287-296, 2019.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Vegetative rescue and cuttings propagation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Rev. Árvore**, v. 39, n. 1, p. 93-104, 2015.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. **New Forest.**, v. 45, p. 449-471, 2014.

WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Rooting of *Araucaria angustifolia*: types of cuttings and stock plants sex. **Rev. Árvore**, v. 40, n. 6, p. 1013-1021, 2016.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Rev. Árvore**, v. 29, p. 921-930, 2005.

## CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que as avaliações com *Eugenia uniflora* foram conduzidas, os resultados permitiram as conclusões de que:

- A espécie apresenta grande variabilidade no teor e na composição química de óleo essencial de suas folhas;
- Os 36 genótipos avaliados formam 6 grupos distintos em relação a composição de seus óleos essenciais;
- A variabilidade observada é decorrente das diferenças genéticas dos genótipos estudados;
- Variações nas condições ambientais das quatro estações do ano influenciam no teor dos óleos essenciais;
- Óleos essenciais coletados em diferentes estações do ano apresentam alterações quantitativas em seus compostos sem apresentarem alterações na sua composição. Estas alterações determinam a intensidade de suas atividades biológicas;
- Todos os óleos essenciais testados apresentam atividade antioxidante, cuja composição química influencia na intensidade desta ação biológica;
- A atividade antibacteriana do óleo essencial de *Eugenia uniflora* avaliada é considerada de moderada a fraca em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*;
- A espécie é considerada de difícil enraizamento. Para a indução de emissão de raízes é necessário a aplicação de métodos de rejuvenescimento (poda e miniestaquia);
- Miniestacas coletadas no verão apresentam as maiores médias de enraizamento;
- A aplicação de IBA não é necessária para a obtenção de enraizamento em estacas e miniestacas da espécie;
- Não são observadas diferenças anatômicas entre o material rejuvenescido e não rejuvenescido.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação no teor e na composição do óleo essencial de *Eugenia uniflora* demonstrou grande variabilidade. Tratando de genótipos que estão sob as mesmas condições ambientais, a variabilidade observada pode ser decorrente da carga genética de cada planta. Estas informações são importantes para auxiliar em futuros programas de melhoramento da espécie.

A diferença na composição dos óleos essenciais estudados pode ser fonte para outros trabalhos que venham a mensurar suas atividades biológicas. A variabilidade na composição do óleo essencial de *E. uniflora* pode ser considerada um problema para indústria. As atividades biológicas dos óleos essenciais são dependentes dos compostos presentes, portanto a utilização para determinado fim cosmético e/ou farmacêutico, deve ser amplamente avaliada.

*E. uniflora* não é uma espécie amplamente cultivada, poucos plantios da espécie são registrados. Em espécies nativas, além do fator genético, fatores ambientais também podem influenciar na sua fitoquímica. A identificação e a domesticação de plantas com composição química para potencial desenvolvimento de produtos comerciais, pode impulsionar a implantação de pomares com este fim.

Como foi observado com os dados de propagação vegetativa da espécie, pode-se considerá-la como de difícil enraizamento. No entanto, métodos de rejuvenescimento com intuito de resgate de genótipos que apresentem apelo comercial é viável. A miniestaquia se mostrou uma técnica promissora para *E. uniflora*. A porcentagem de enraizamento foi maior que a outros métodos de propagação vegetativa por estaquia utilizados. Porém, estes índices podem ser melhorados, necessitando de mais estudos para que ela se torne viável comercialmente, como identificar os possíveis cofatores e inibidores e qual a influência destes no processo rizogênico da espécie, para tentar minimizar ou maximizar seus efeitos.

## REFERÊNCIAS GERAIS

ADAMS R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4.1 ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2017.

ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pac. J. Trop. Biomed.**, v. 5, n. 8, p. 589-598, 2015.

ALIGIANIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.

ALMEIDA, J. P. N.; LEITE, G. A.; MENDONÇA, V.; CUNHA, P. S. C. F.; ARRAIS, I. G.; TOSTA, M. S. Concentrações de AIB e substratos no enraizamento e vigor de estacas lenhosas de cajaraneira. **Rev. Cienc. Agrar.**, v. 60, n. 1, p. 11-18, 2017.

ALMEIDA, L. F. R.; FREI, F.; MANCINI, E.; MARTINO, L.; FEO, V. Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. **Molecules**, v. 15, p. 4309-4323, 2010.

ALMEIDA, M.; GRANESR, E. M.; BRONDANI, G. E.; OLIVEIRA, L. S.; ARTOLI, F. A.; ALMEIDA, L. V.; LEONE, G. F.; BACCARIN, F. J. B.; ANTONELLI, P. O.; CORDEIRO, G. M.; OBERSCHELP, G. P. J.; PIOTTO, K. D. B. Plant morphogenesis: theoretical bases. **Adv. For. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 13-22, 2015.

AMSTRONG, L.; DUARTE, M. R.; MIGUEL, O. G. Morpho-anatomy of the leaf and stem of *Eugenia pyriformis*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 22, n. 3, p. 475-481, 2012.

ANESE, S.; GAMBARRA, W. P. T.; GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J. Insecticidal action of *Drimys brasiliensis* Miens on black citrus. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 49, n. 3, p. 484-490, 2018.

ARAÚJO, F. M.; DANTAS, M. C. S. M.; SILVA, L. S.; AONA, L. Y. S.; TAVARES, I. F.; SOUZA-NETA, L. C. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. **Ind. Crops Prod.**, v. 105, p. 203-206, 2017.

ASBAHANI A. E.; MILADI, K.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASBIANCA, H.; MOUSADIK, A.; HARTMANN, D.; JILALE, J.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oil: From extracion to encapsulation. **Int. J. Pharm.**, v. 483, p. 220-243, 2015.

BAKKALI, F.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chem. Toxicol.**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BALIGA, M. S.; BHAT, H. P.; BALIGA, B. R. V.; WILSON, R.; PALATTY, P. L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (black plum): A review. **Food Res. Int.**, v. 44, p. 1776–1789, 2011.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, v. 2. 1991.

BENABDALLAH, F. Z.; ZELLAGUI, A.; DEMIRTAS I. Chemival composition of essential oils and antioxidant activities of extracts of two endemic plants from Algeria. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.**, v. 8, n. 1, p. 244-250, 2017.

BERNARDES Jr, E. J.; VALE, S. R.; SOUSA, C. M. Indução ao enraizamento de estacas de *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* com ácido indolbultírico. **Encicl. Biosf.**, v. 14 n. 25; p. 796-805, 2017.

BEZERRA, C. F.; OLIVEIRA NETO, F. B.; SILVA, F. F. M.; BERTINI, L. M.; ALVES, L. A. Seasonal effect in essential oil composition and antioxidante activity of *Plectranthus amboinicus* leaves. **Biosci. J.**, v. 33, n. 6, p. 1608-1616, 2017.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial**. Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 1ª edição, Curitiba, 2009.

BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 11, n. 3, p. 277-281, 2009.

BIZZO, H. R., HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BOMBOA, A.B.; FILARTIGA, A. L.; GARCIA, V. L.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Secretory structures in *Aldama* species (Heliantheae–Asteraceae): morphology, histochemistry and composition of essential oils. **Flora**, v. 228, p. 39-49, 2017.

BONFIM, N. N. S.; NAKASSUGI, L. P.; OLIVEIRA, J. F. P.; KOHIYAMA, C. Y.; MOSSINI, S. A. G.; GRESPAN, R.; NERILO, S. B.; MALLMANN, C. A.; ABREU-FILHO, B. A.; MACHINSKI Jr, M. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.). **Food Chem.**, v. 166, p. 330-336, 2015.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. G. C.; LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH RAO, V. S.; BRITO, G. A. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 40, p. 349-356, 2007.

BRAGA, M. F.; SANTOS, E. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUSA, A. A. T. C.; FALEIRO, F. G.; REZENDE, L. N.; JUNQUEIRA, K. F. Enraizamento de estacas de três espécies silvestres de *passiflora*. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 28, n. 2, p. 284-288, 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technol.**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRUN, G. R.; MOSSI, A. J. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Perspectiva**, v.34, n.127, p. 135-142, 2010.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 94, p. 223-253, 2004.

CALDEIRA, M. V. W.; GONÇALVES, E. O.; WENDLING, I.; MARTINS, R. C. C. Produção de mudas. In: SCHUMACHER, M. V.; VIEIRA, M. **Silvicultura do Eucalipto no Brasil**. 3ª ed., Santa Maria/ RS, Ed. UFSM, 2016.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.

CARDOSO, E. A.; ALVES, E. U.; ALVES, A. U. Qualidade de sementes de pitombeira em função do período e da temperatura de secagem. **Semina: Ciênc. Agrár.**, v. 36, n. 1, p. 7-16, 2015.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A. Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In: THORMAR, H. **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**. 1<sup>a</sup> ed. John Wiley & Sons, p. 223-238, 2011.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, I. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - a review. **Int. J. Cosmet. Sci.**, v. 38, p. 109-119, 2016.

CARVALHO-FILHO, J. L. S.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; EHLERT, P. A. D.; MELO, A. S.; CAVALCANTI, S. C. H.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SIVA-MANN, R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, n. 1, p. 24-30, 2006.

CERQUEIRA, M. D.; MARQUES, E. J.; MARTINS, D.; ROQUE, F. N.; CRUZ, F. G. Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). **Quim. Nova**, v. 32, n. 6, p. 1544-1548, 2009.

CHANG, R. MORAIS, S. A. L.; DUARTE, K. C.; GUZMAN, V. B.; NASCIMENTO, E. A. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oils of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 21, n. 3, p. 392-396, 2011.

CHAVES, M. A.; BARRETO, I. M. A.; REIS, R. C.; KADAM, D. M. Physicochemical and sensory properties of purple Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) foams. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 48, p. 1688–1697, 2013.

CHAVES, M. P.; CANUTO, K. M.; PEREIRA, R. C. A.; RODRIGUES, T. H. S.; PEREIRA, A. K. B.; BRITO, E. S.; ZOCOLO, G. J. **Caracterização dos óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas cultivadas no horto da Embrapa Agroindústria Tropical**. Embrapa Agroindústria Tropical, 2017.

CHEYNIER, V.; COMTE, G.; DAVIES, K. M.; LATTANZIO, V.; MARTENS, S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiol. Biochem.**, v. 72, p. 1-20, 2013.

CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard**—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

COMEXSTAT. **Exportação e importação geral**. Disponível em <comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>. Acesso em 14 Fev. 2019.

COSTA, D. P.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; SANTOS, S. C.; PASSOS, X. S.; SILVA, M. R.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Influence of Fruit Biotypes on the Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 5, p. 851-858, 2010.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **J. Funt. Foods**, v. 5, p. 539-549, 2013.

COSTA, D. P.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 7, p. 1287-1293, 2009.

CUNHA, F. A. B.; WALLAU, G. L.; PINHO, A. I.; NUNES, M. E. M.; LEITE, N. F.; TINTINO, S. R.; COSTA, G. M.; ATHAYDE, M. L.; BOLIGON, A. A.; COUTINHO, H. D. M.; PEREIRA, A. B.; POSSER, T.; FRANCO, J. L. *Eugenia uniflora* leaves essential oil induces toxicity in *Drosophila melanogaster*: involvement of oxidative stress mechanisms. **Toxicol. Res.**, v. 4, n. 3, p. 634-644, 2015.

DANNER, M. A.; GUBERT, C.; TAGLIANI, M. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Estaquia semilenhosa de *Vochysia bifalcata*. **Sci. Agrar.**, v. 11, n. 6, p. 487-491, 2010.

DELGADO, L. F.; BARBEDO, C. J. Tolerância à dessecação de sementes de espécies de *Eugenia*. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 42, n. 2, p. 265-272, 2007.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; MAGALHÃES, C. G.; SILVA, C. J.; MALTHA, C. R. A.; PINHEIRO, A. L. Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of *Leptospermum* (Myrtaceae) grown in Brazil. **Molecules**, v. 16, p. 1181-1191, 2011.

DHANDAPANI, S.; JIN, J.; SRIDHAR, V.; SAROJAM, R.; CHUA, N.; JANG, I. Integrated metabolome and transcriptome analysis of *Magnolia champaca* identifies biosynthetic pathways for floral volatile organic compounds. **BMC Genomics**, v. 18, p. 1-18, 2017.

DHOUIOUI, M.; BOULILA, A.; CHAABANE, H.; ZINA, M. S.; CASABIANCA, H. Seasonal changes in essential oil composition of *Aristolochia longa* L. ssp. *paucinervis* Batt. (Aristolochiaceae) roots and its antimicrobial activity. **Ind. Crops Prod.**, v. 83, p. 301-306, 2016.

DIAS, A. B.; CARVALHO, M. A. P.; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, V. J. A. Variabilidade e caracterização de frutos de pitangueiras em municípios baianos. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 33, n. 4, p. 1169-1177, 2011.

DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e minestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesq. Flor. Bras.**, v. 32, n. 72, p. 453 – 462, 2012.

DIAS, P. C.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; FÉLIX, G. A.; PIRE, I. E. Resgate vegetativo de árvores de *Anadenanthera macrocarpa*. **Cerne**, v. 21, n. 1, p. 83-89, 2015.

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

DIT, M. M.; BENYAHIA, M.; BENALI, F. T.; RAHMANI, M.; BOUAZZA, S. Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders. **Phytothérapie**, v. 15, p. 367-372, 2017.

EMER, A. A.; SCHAFER, G.; FIOR, C. S. Cutting from *Campomanesia aurea* O. Berg (Myrtaceae): The collection time of propagules and the effects of auxin. **Rev. Bras. Cienc. Agrar.**, v. 13, n. 1, 2018.

FACANALI, R.; CAMPOS, M. M. S.; MING, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; MARQUES, M. O. M. Biologia reprodutiva de populações de *Ocimum selloi* Benth. **Rev. Bras. Ol. Med.**, v. 11, n. 2, p. 141-146, 2009.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A. NACHITIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

FAGANELLO, L. R.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Efeitos dos ácidos indolbutírico e naftalenoacético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud. **Ci. Fl.**, v. 25, n. 4, p. 863-871, 2015.

FEJÉR, J.; GRUL'OVÁ, D.; ELIAŠOVÁ, A.; KRON, I.; FEO, V. Influence of environmental factors on content and composition of essential oil from common juniper ripe berry cones (*Juniperus communis* L.). **Plant Biosyst.**, v. 152, n. 6, p. 1227–1235, 2018.

FELZENER, L. T.; BARREIRO, A. P.; ONO, E. O.; BARROS-CARDOSO, S. A.; RODRIGUES, J. D. Efeitos de reguladores vegetais no enraizamento de estacas caulinares de *Poncirus trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 29, n. 2, p. 399-402, 2007.

FERNANDES, A. C. T.; PASIN, L. A. A. P. Influência de diferentes substratos no desenvolvimento inicial de mudas de pitangueira. **Rev. Ciên. Amb.**, v. 12, n. 3, p. 63-71, 2018.

FERRARI, M. C.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo, Embrapa Florestas, 2004.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. Miniestaquia aplicada a espécies florestais. **Rev. Agro@ambiente On-line**, v. 4, n. 2, p. 102-109, 2010.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Fragr. J.**, v. 23, p. 213–226, 2008.

FORZZA, R. C.; COSTA, A.; WALTER, B. M. T.; PIRANI, J. R.; MORIM, M. P.; QUEIROZ, L. P.; MARTINELLI, G.; PEIXOTO, A. L.; COELHO, M. A. N.; BAUMGRATZ, J. F. A.; STEHMANN, J. R.; LOHMANN, L. G. 2015. **Angiospermas in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB128482>>. Acesso em: 27 Fev. 2019.

FRAGOSO, R. O.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARANHÃO, G.; STUEPP, C. A.; KOEHLER, H. S. Propagação vegetativa de *Juniperus chinensis*. **Com. Sci.**, v. 6, n. 3, p. 307-316, 2015.

FRANZON, R. C.; CARPENEDO, S.; SILVA, J. C. S. **Produção de Mudanças principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras**. Planaltina/DF, Embrapa Cerrados, 2010.

FRANZON, R. C.; GONÇALVES, R. S.; ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. Propagação vegetativa de genótipos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) do sul do Brasil por enxertia de garfagem. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 32, n. 1, p. 262-267, 2010.

FRANZON, R. C.; GONÇALVES, R. S.; ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B.; TREVISAN, R. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 30, n. 2, p. 488-491, 2008.

GALHIANE, M. S.; RISSATO, S. R.; CHIERICE, G. O.; ALMEIDA, M. V.; SILVA, L. C. Influence of different extraction methods on the yield and linalool content of the extracts of *Eugenia uniflora* L. **Talanta**, v. 70, p. 286-292, 2006.

GASPARETTO, A.; CRUZ, A. B.; WAGNER, T. M.; BONOMINI, T. J.; CORREA, R.; MALHEIROS, A. Seasonal variation in the chemical composition, antimicrobial and mutagenic potential of essential oils from *Piper cernuum*. **Ind. Crops Prod.**, v. 95, p. 256-263, 2017.

GALLUCCI, S.; PLACERES NETO, A.; PORTO, C.; BARBIZAN, D.; COSTA, I.; MARQUES, K.; BENEVIDES, P. FIGUEIREDO, R. Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: an industrialperfumary approach. **J. Essent. Oil Res.**, v. 22, p. 176-179, 2010.

GARCIA, M. O. **Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, 2018.

GATTI, K. C.; GONÇALVES, R. C.; XAVIER, A.; PAIVA, H. Propagação vegetativa de jequitibá *Cariniana estrellensis* (Raddi) por miniestaquia. **Temas Agrar.**, v. 16, n. 2, p. 54-63, 2011.

GHAZOUANI, N.; SIFAOU, I.; BACHROUCH, O.; ABDERRABBA, M.; PINERO, J. E.; LORENZO-MORALES, J. Essential oil composition and anti *Acanthamoeba* studies of *Teucrium ramosissimum*. **Exp. Parasitol.**, v. 183, p. 207-211, 2017.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P. C. Plinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Rev. Brasil. Bot.**, v. 29, n. 4, p. 509-530, 2006.

GRIFFS, J. L.; MANNERS, M. M. Inheritance of fruit color in Surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) – A preliminary study. **Proc. Fla. State Hort. Soc.**, v. 118, p. 198-199, 2005.

HAMDI, O. A. A.; YE, L. J.; KAMARUDIN, M. N. A.; HAZNI, H.; PAYDAR, M.; LOOI, C. Y.; SHILPI, J. A.; KADIR, H. A.; AWANG, K. Neuroprotective and antioxidant constituents from *Curcuma zedoaria* rhizomes. **Rec. Nat. Prod.**, v. 9, n. 3, p. 349-355, 2015.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVEIS, JR. F. T.; GENEVE, R.L. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 7<sup>a</sup> ed., New Jersey: Prentice-Hall, 2002.

HENRIQUES, A. T.; SOBRAL, M. E.; CAUDURO, A. D.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L. Aromatic plants from Brazil. II. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils. **J. Essent. Oil Res.**, v. 5, p. 501-505, 1993.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; NIGAM, P. S.; ASHRAFD, M.; GILANIF, A. H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **J. Sci. Food Agric.**, v. 90, p. 1827-1836, 2010.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Co. 1940.

JUNKER, R. R.; THOLL, D. Volatile organic compound mediated interactions at the plant-microbe interface. **J. Chem. Ecol.**, v. 39, p. 810–825, 2013.

KÖPPEN, W. **Grundriss Der Klimakunde**. Berlin: W. Guyter, 1931. 390p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

KUMAR, A. S.; JEYAPRAKASH, K.; CHELLAPPAN, D. R.; MURUGAN, R. Vasorelaxant and cardiovascular properties of the essential oil of *Pogostemon elsholtzioides*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 199, p. 86-90, 2017.

LAGO, J. H. G.; SOUZA, E. D.; MARIANE, B.; PASCON, R.; VALLIM, M. A.; MARTINS, R. C. C.; BAROLI, A. A.; CARVALHO, B. A.; SOARES, M. G.; SANTOS, R. T.; SARTORELLI, P. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae — *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, v. 16, p. 9827-9837, 2011.

LANGVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: A review. **Crit. Rev. Microbiol.**, v. 40, n. 1, p. 76-94, 2014.

LATOH, L. P.; DALLAGRANA, J. F.; PORTES, D. C.; MAGGIONI, R. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa via miniestaquia caulinar seriada e produtividade de minijardim de espécies de *Tibouchina* spp. **Rev. Elet. Cient.**, v. 4, n. 3, p. 343-357, 2018.

LATTUADA, D. S.; SPIER, M.; SOUZA, P. V. D. Pré-tratamento com água e doses de ácido indolbutírico para estaquia herbácea de pitangueiras. **Cienc. Rur.**, v. 41, n. 12, p. 2073-2079, 2011.

LAWLESS, J. **The Encyclopedia of Essential oils - The Complete Guide to the Use of Aromatics Oils in Aromatherapy, Herbalism, Health & Well-Being.** Conari Press, San Francisco, California. 2013.

LEI, S. A. Benefits and costs of vegetative and sexual reproduction in perennial plants: A review of the literature. **J. Arizona-Nevada Acad. Sci.**, v. 42, n. 1, p. 9-14, 2010.

LIMA, C. C.; OHASHI, S. T. Substrato no enraizamento de estacas provenientes de mudas de *Schizolobium parahyba* var. Amazonicum. **Encicl. Biosf.**, v. 13, n. 23, 2016.

LIMA, C. C.; OHASHI, S. T.; SILVEIRA, A. S. Efeito de diferentes concentrações de aib e procedências geográficas no enraizamento de estacas de paricá. **Ciênc. Florestal**, v. 28, n. 3, p. 1282-1292, 2018.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LIRA Jr, J. S.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA Jr, J. F. **Pitangueira.** Recife : Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA, 2007.

LIU, Y.; WANG, W.; FANG, B.; MA, F.; ZHENG, Q.; DENG, P.; ZHAO, S.; CHEN, M.; YANG, G.; HE, G. Anti-tumor effect of germacrone on human hepatoma cell lines through inducing G2/M cell cycle arrest and promoting apoptosis. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 698, p. 95-102, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e exóticas cultivadas.** 1ª Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de estudos da flora Ltda, 2002.

LUBBE, A.; VERPOORTE, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. **Ind. Crops Prod.**, v. 34, n. 1, p. 785-801, 2011.

LUGHADHA, E. N.; PROENÇA, C. E. B. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Ann. Missouri Bot. Garden**, v. 83, p. 480-503, 1996.

MAFFEI, M. E. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. **S. Afr. J. Bot.**, v. 76, p. 612-631, 2010.

MAIA, G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L.; ZOGHBI, M. G. B. A New chemotype of *Eugenia uniflora* L. from north Brazil. **J. Essent. Oil Res.**, v. 11, p. 727-729, 1999.

MANDOULAKANI, B. A.; EYVAZPOUR, E.; GHADIMZADEH, M. The effect of drought stress on the expression of key genes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids and essential oil components in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Phytochem.**, v. 139, p. 1-7, 2017.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMMER, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 31, n. 2, p. 607-611, 2009.

MARTINS, A. S. **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de espécies do gênero *Eugenia* (Myrtaceae)**. 2015. Trabalho de conclusão de curso (Farmácia) - Universidade de Brasília, Brasília/DF, 2015.

MAZINE, F. F.; SOUZA, V. C.; SOBRAL, M.; FOREST, F.; LUCAS, E. A preliminary phylogenetic analysis of *Eugenia* (Myrtaceae: Myrteae), with a focus on Neotropical species. **Kew Bull.**, v. 69, p. 9497, 2014.

MAYER, J. L. S.; BIASI, L. A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta bot. bras.**, v. 20, n. 3, p. 563-568, 2006.

MEDRADO, M. J. S.; APPEZZATO-DA-GIÓRIA, B.; COSTA, J. D. Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução de enraizamento. **Sci. Agric.**, v. 52, n. 1, p. 89-95, 1995.

MENEZES, A.; SAMPAIO, P. T. B.; BLIND, A. D. Propagação de Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Duke) por estacas e miniestacas. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 515-521, 2018.

MERWE, M. M.; WYK, A. E.; BOTHA, A. M. Molecular phylogenetic analysis of *Eugenia* L. (Myrtaceae), with emphasis on southern African taxa. **Plant Syst. Evol.**, v. 251, p. 21–34, 2005.

MIGUES, I.; BAENAS, N.; GIRONÉS-VILAPLANA, A.; CESIO, M. V.; HEISEN, H.; MORENO, D. Phenolic profiling and antioxidant capacity of *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) samples collected in different uruguayan locations. **Foods**, v. 7, p. 67, 2018.

MIMICA-DUKIC, N.; BUGARIN, D.; GRBOVIC, S.; MITIC-CULAFIC, D.; VUKOVIC-GACIC, B.; ORCIC, D.; JOVIN, E.; COULADIS, M. Essential Oil of *Myrtus communis* L. as a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents. **Molecules**, v. 15, p. 2759-2770, 2010.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Hort. Bras.**, v. 27, p. 4050-4063, 2009

MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. M. Família Myrtaceae: Análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Agrar. Acad.**, v. 1, n. 1, p. 317-346, 2014.

MORAIS, S. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I.L.; ALENCAR, J. W.; MATOS, F. J. A. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from northeastern Brazil. **J. Essent. Oil Res.**, v. 8, n. 4, p. 449-451, 1996.

MORAIS, S. M.; LIMA, K. S. B.; SIQUEIRA, S. M. C.; CAVALCANTI, E. S. B.; SOUZA, M. S. T.; MENEZES, J. E. S. A.; TREVISAN, M. T. S. Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 15, n. 4, p. 575-582, 2013.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; FIGUEIREDO, R. W.; PAIVA, J. R. Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 38, n. 1, p. 52-57, 2007.

MOURA, G. S.; OLIVEIRA, I. J.; BONOMEL, L. T.; FRANZENER, G. *Eugenia uniflora* L.: potential uses as a bioactive plant. **Arq. Inst. Biol.**, v. 85, p. 1-9, 2018.

MOSTAFA, A. A.; AL-ASKAR, A. A.; ALMAARY, K. S.; DAWOUD, T. M.; SHOLKAMY, E. N.; BAKRI, M. M. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 25, p. 361-366, 2018.

NASCIMENTO, I. B.; INNECCO, R.; MATOS, S. H.; BORGES, N. S. S.; MARCO, C. A. Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de capim-santo (*Andropogum* sp). **Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 123-127, 2006.

NERI-NUMA, I. A.; CARVALHO-SILVA, L. B.; MORALES, J. P.; MALTA, L. G.; MURAMOTO, M. T.; FERREIRA, J. E. M.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; MARÓSTICA Jr, M. R.; PASTORE, G. M. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Res. Int.**, v. 50, p. 70–76, 2013.

NIKOLIC, B.; MITIC-CULAFIC, D.; VUKOVIC-GACIC, B.; KENEZEVIC-VUKCEVIC, J. Modulation of genotoxicity and DNA repair by plant monoterpenes camphor, eucalyptol and thujone in *Escherichia coli* and mammalian cells. **Food Chem. Toxicol.**, v. 49, p. 2035–2045, 2011.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SCHMIDT, J. M.; SETZER, W. N. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. **Int. J. Aromather.**, v. 15, p. 147-152, 2005.

OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chem.**, v. 99, p. 1–5, 2006.

OLIVEIRA, A. R. M. F.; JEZLER, C. N.; OLIVEIRA, R. A.; MIELKE, M. S. COSTA, L. C. B. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. **Hortic. Bras.**, v. 30, n. 1, 2012.

OLIVEIRA, Y.; ALCANTARA, G. B.; GUEDES, I.; PINTO, F.; QUIORIN, M.; BIASI, L. A. Substratos, concentrações de ácido indolbutírico e tipos de miniestacas no enraizamento de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 14, n. 4, p. 611-616, 2012.

PACHECO-SILVA, N. V.; DONATO, A. M. Morpho-anatomy of the leaf of *Myrciaria glomerata*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 26, p. 275-280, 2016.

PAULUS, D.; PAULUS, E. Efeito de substratos agrícolas na produção de mudas de hortelã propagadas por estaquia. **Hortic. bras.**, v. 25, n. 4, p. 594-597, 2007.

PEÑA, M. L.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de pitangueira. **Semina: Ciênc. Agrár.**, v. 36, n. 5, p. 3055-3068, 2015a.

PEÑA, M. L.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Miniestaquia a partir de minicepas originadas por enxertia de pitangueira adulta. **Com. Sci.**, v. 6, n. 3, p. 297-306, 2015b.

PEÑA-PEÑA, M. L. **Propagação vegetativa de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) por estaquia e miniestaquia**. 2014. Tese (Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2014.

PEREIRA, C. B.; KANUNFRE, C. C.; FARAGO, P. V.; BORSATO, D. M.; BUDEL, J. M.; MAIA, B. H. L. N. S.; CAMPESATTO, E. A.; SARTORATTO, A.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Cytotoxic mechanism of *Baccharis milleflora* (Less.) DC. essential oil. **Toxicol. in Vitro**, v. 42, p. 214-221, 2017.

PEREIRA, F. B.; PERES, F. S. B. Nutrição e enraizamento adventício de plantas lenhosas. **Pesq. Flor. Bras.**, v. 36, n. 87, p. 319-326, 2016.

PEREIRA, L. D.; COSTA, M. L.; PINTO, J. F. N.; ASSUNÇÃO, H. F.; REIS, E. F.; SILVA, D. F. P. Propagação de gabirobeiras via estaquia associada ao ácido indolbutírico. **Rev. Bras. Agropec. Sust.**, v. 7, n. 1, p.19-25, 2017.

PINTO, Z. T.; CARNEIRO, J. F.; CARRIÇO, C.; CAETANO, R. L.; FERREIRA, V. S. B.; MENDONÇA, P. M.; BERENGER, A. L. R.; FIGUEIREDO, M. R. Acaricidal effects of seven Brazilian plant extracts. **Rev. Colomb. Entomol.**, v. 44, n. 1, p. 44-47, 2018.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, M. A. C.; ZARBIN, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Quim. Nova**, v. 36, n. 9, p. 1395-1405, 2013.

PIO, R.; ARAÚJO, J. P. C.; BASTOS, D. C.; ALVES, A. S. R.; ENTELMANN, F. A.; SCARPARE FILHO, J. A.; MOURÃO FILHO, F. A. A. Substratos no esraizamento de estacas herbáceas de figueira oriundas de desbrota. **Ciênc. agrotec.**, v. 29, n. 3, p. 604-609, 2005.

POOLE, I.; HUNT, R. J.; CANTRILLI, D. J. A Fossil Wood Flora from King George Island: Ecological Implications for an Antarctic Eocene Vegetation. **Ann. Bot.**, v. 88, p. 33-54, 2001.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014.

RAHIMMALEK, M.; GOLI, S. A. H. Evaluation of six treatments with respect to essential oil yield, composition and color characteristics of *Thymys daenensis* subsp. *daenensis*. Celak leaves. **Ind. crops prod.**, v. 42, p. 613-619, 2013.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal proprieties of essential oils. **Ind. Crops Prod.**, v. 62, p. 250-264, 2014.

RETAMALES, H. A.; SCHARASCHKINA, T. Comparative leaf anatomy and micromorphology of the Chilean Myrtaceae: Taxonomic and ecological implications. **Flora**, v. 217, p. 138-154, 2015.

RICKLI, H. C.; BONA, C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Origem de brotações epicórmicas e aplicação de ácido indolilbutírico no enraizamento de estacas de *Vochysia bifalcata* Warm. **Ciênc. Florestal**, v. 25, n. 2, p. 385-393, 2015.

RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. V.; OLIVEIRA, J. M. G.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; CARNEIRO, S. M. P.; CARAVALHO, F. A. A. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-*Leishmania* agent: Effects on *Leishmania amazonenses* and possible mechanisms of action. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, p. 1-10, 2013.

RONGAI, D.; PULCINI, P.; PESCE, B.; MILANO, F. Antifungal activity of pomegranate peel extract against fusarium wilt of tomato. **Eur. J. Plant Pathol.**, v. 147, p. 229-238, 2017.

SACHIN, A. J.; BAHALERAO, P. P.; PATIL, S. J.; DESAI, B. S. Essential oils beyond aroma - a review. **Curr. Hortic.**, v. 4, n. 2, p. 3-6, 2016.

SALEMA, N.; KEFIA, S.; TABBENA, O.; AYEDA, A.; JALLOULIA, S.; FERESA, N.; HAMMAMIB, M.; KHAMMASIB, S.; HRIGUAA, I.; NEFISIA, S.; SGHAIERA, A.; LIMANA, F.; ELKAHOUIA, S. Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. **Ind. Crops Prod.**, v. 124, p. 115-125, 2018.

SANTOS, F. R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R. N. influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Quim. Nova**, v. 38, n. 6, p. 762-768, 2015.

SANTOS, J. F. S.; ROCHA, J. E.; BEZERRA, C. F.; SILVA, M. K. N.; MATOS, Y. M. L. S.; FREITAS, T. S.; SANTOS, A. T. L.; CRUZ, R. P.; MACHADO, A. J. T.; RODRIGUES, T. H. S.; BRITO, E. S.; SALES, D. L.; ALMEIDA, W. O.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chem.**, v. 261, p. 233–239, 2018.

SCHUCH, M. W.; DAMIANI, C. R.; SILVA, L. C.; ERIG, A. C. Micropropagação como técnica de rejuvenescimento em mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cultivar Climax. **Ciênc. Agrotec.**, v. 32, n. 3, p. 814-820, 2008.

SCIARRONE, D.; SCHEPIS, A.; GRAZIA GEMA, ROTONDO, A. ALIBRANDO, F.; CIPRIANO, R. R.; BIZZO, H.; DESCHAMPS, C.; SIDISKY, L. M.; MONDELLO, L. Collection and identification of an unknown component from *Eugenia uniflora* essential oil exploiting a multidimensional preparative three-GC system employing apolar, mid-polar and ionic liquid stationary phases. **Faraday Discuss.**, v. 218, p. 101-114. 2019.

SHAZHNI, J. R. A.; RENU, A.; VIJAYARAGHAVAN, P. Insights of antidiabetic, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of antimicrobial secondary metabolites of corm extract from *Caladium x hortulanum*. **Saudi J. Biol. Sci.**, v. 25, n. 8, p. 1755-1761, 2018.

SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Bot. Bras.**, v. 21, p. 235-247, 2007.

SILVA, É. C. C.; RUFINI, J. C. M.; PARRELA, N. N. L. D.; CAMPOS, A. S.; NEVES, F. F. Comportamento fisiológico de sementes de *Eugenia dysenterica* DC submetidas à secagem artificial. **Gl. Sci. Technol.**, v. 09, n. 01, p. 7–14, 2016.

SILVA, F. A. Z.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res.**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

SILVA, F. G.; OLIVEIRA, C. B. A.; PINTO, J. E. B. P.; NASCIMENTO, V. E.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability in the essential oils of wild and cultivated *Baccharis trimera*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 5, p. 990-997, 2007.

SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; PIO, R.; ZAMBON, C. R.; OLIVEIRA, D. L. Enraizamento de estacas semilenhosas de cultivares de oliveira. **Bragantia**, v. 71, n. 4, p. 488-492, 2012.

SILVA, P. R. D.; PISPOLI, R. G.; MINOZZO, M. M.; JOBIM, L. H.; JUNGES, M.; STEFENON, V. M. A regenerative route for *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) through in vitro germination and micropropagation. **Ann. For. Res.**, v. 57, n. 1, p. 39-45, 2014.

SILVA, V. P.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D.; BRETANHA, L. C.; BALLESTE, M. P.; MICKE, G. A.; SILVEIRA, E. V.; MARTINS, C. H. G.; AMBROSIO, M. A. L.; SILVA, T. S.; TAVARES, D. C.; MAGALHÃES, L. G.; SILVA, F. G.; EGEA, M. B. Chemical composition and *in vitro* leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. **Ind. Crops Prod.**, v. 123, p. 638-645, 2018.

SINHA, S.; JOTHIRAMAJAYAM, M.; GHOSH, M.; MUKHERJEE, A. Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes. **Food Chem. Toxicol.**, v. 68, p. 71–77, 2014.

SMITHA, G. R.; TRIPATHY, V. Seasonal variation in the essential oils extracted from leaves and inflorescence of different *Ocimum* species grown in Western plains of India. **Ind. Crops Prod.**, v. 94, p. 52-64, 2014

SOARES-SILVA, L. H. **A família Myrtaceae – subtribos: Myrciinae e Eugeniinae na bacia hidrográfica do Rio Tibagi, estado do Paraná, Brasil.** 2000. 462f. Tese. (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2000.

SOBEH, M.; BRAUN, M. S.; KRSTIN, S.; YOUSSEF, F. S.; ASHOUR, M. L.; WINK, M. Chemical profiling of the essential oils of *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* and *Eugenia uniflora* and their discrimination using chemometric analysis. **Chem. Biodivers.**, v. 13, p. 1537–1550, 2016.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. 2015. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10338>>. Acesso em: 27 Fev. 2019.

SOUZA, A. M.; OLIVEIRA, C. F.; OLIVEIRA, V. B.; BETIM, F. C. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Traditional uses, phytochemistry, and antimicrobial activities of *Eugenia* species – A Review. **Planta Med.**, v. 84, n. 17, p. 1232-1248, 2018.

SOUZA, J. A.; SCHUCH, M. W.; DONINI, L. P.; RIBEIRO, M. F. Tipos e concentrações de citocinina na multiplicação *in vitro* de pitangueira. **Ciên. Rur.**, v. 38, n. 7, 2008.

SOUSA, R. M. F.; MORAIS, S. A. L.; VIEIRA, R. B. K.; NAPOLITANO, D. R.; GUZMANB, V. B.; MORAES, T. S.; CUNHA, L. C. S.; MARTINS, C. H. G.; CHANGA, R.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, E. A.; OLIVEIRA, A. Chemical composition, cytotoxic, and antibacterial activity of the essential oil from *Eugenia calycina* Cambess. leaves against oral bacteria. **Ind. Crops Prod.**, v. 65, p. 71-78, 2015.

SPICER, R.; GROOVER, A. Evolution of development of vascular cambia and secondary growth. **New Phytolog.**, v. 186, p. 577-592, 2010.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from Neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chem. Biodivers.**, v. 8, p. 73-94, 2011.

STESEVIC, D.; BOZOVIC, M.; TADIC, V.; RANCIC, D.; SREVANOVIC, D. Z. Plant-part anatomy related composition of essential oils and phenolic compounds in *Chaerophyllum coloratum*, a Balkan endemic species. **Flora**, v. 220, p. 37-51, 2016.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIHAH, U. R. Antibacterial properties of plant essential oil against human pathogens and their mode of action: An updated review. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, p. 1-21, 2016.

SYSTMA, K. J.; LITT, A.; ZJHRA, M. L.; PIRES, J. C.; NEPOKROEFF, M.; CONTI, E.; WALKER, J.; WILSON, P. G. Clades, clocks, and continents: Historical and biogeographical analysis of Myrtaceae, Vochysiaceae, and relatives in the southern hemisphere. **Int. J. Plant Sci.**, v. 165, n. 4, p. 85-105, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre, 2009.

THADEO, M.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras da folha de *Casearia decandra* Jacq. (Salicaceae). **Rev. Brasil. Bot.**, v. 32, n. 2, p. 329-338, 2009.

THAMBI, M.; TAVA, A.; MOHANAKRISHNAN, M.; SUBBURA, M. PRADEEPKUMAR, K. M.; SHAFIL, P. M. Composition and antimicrobial activities of the essential oil from *Eugenia uniflora* L. leaves growing in India. **Int. J. Pharm. Biomed. Sci.**, v. 4, n. 1, p. 46-49, 2013.

THEANPHONG, O.; MINGVANISH, W.; KIRDMANEE, C. Chemical constituents and activities of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome. **Bull. Health Sci. Technol.**, v. 13, n. 1, p. 6-16, 2015.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.**, v. 12, p. 40-53, 2013.

TURKEZ, H.; AYDN, E.; GEYIKOGLU, F.; CETIN, D. Genotoxic and oxidative damage potentials in human lymphocytes after exposure to terpinolene in vitro. **Cytotechnol.**, v. 67, n. 3, p. 409-418, 2015.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalisation of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VENTURA, R. B.; SOTO, V. M.; OTINIANO, A. J. Efeito do déficit hídrico e do aumento de temperatura sobre variáveis produtivas fisiológicas e bioquímicas do “cacau” *Theobroma cacao* L. **Arnaldoa**, v. 26, n. 1, p. 287-296, 2019.

VERNA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants**, v. 2, p. 105-136, 2015.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SILVA, W. P.; MOTTA, A. S.; NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chem. Toxicol.**, v. 50, p. 2668-2674, 2012.

VIEIRA, P. M.; VERONEZI, E.; SILVA, C. R.; CHEN-CHEN, L. Detection of Genotoxic, Cytotoxic, and Protective Activities of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) in Mice. **J Med Food**, v. 15, n. 6, p. 563–567, 2012.

VOGT, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Mol. Plant**, v. 3, n. 1, p. 2–20, 2010.

WANG, W.; WU, N.; ZU, Y. G.; FU, Y. J. Antioxidative Activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil to its main components. **Food Chem.**, v. 108, p. 1019-1022, 2008.

WENDLING, I. **Propagação Vegetativa de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): Estado da Arte e Tendências Futuras**. Colombo, Embrapa Florestas, 2004.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Vegetative rescue and cuttings propagation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Rev. Árvore**, v. 39, n. 1, p. 93-104, 2015.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo, Embrapa Florestas, 2006.

WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Rooting of *Araucaria angustifolia*: types of cuttings and stock plants sex. **Rev. Árvore**, v. 40, n. 6, p. 1013-1021, 2016.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. **New Forest.**, v. 45, p. 449-471, 2014.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus*. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 38, n. 4, p. 475-480, 2003.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Rev. Árvore**, v. 29, p. 921-930, 2005.

ZHANG, Y.; LIU, X.; WANG, Y.; JIANG, P.; QWUEK, S. Y. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil *against Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Food Control**, v. 59, p. 282-289, 2016.

ZHAO, J.; ZHANG, J.; YANG, B.; LV, G. P.; LI, S. Free radical scavenging activity and characterization of sesquiterpenoids in four species of *Curcuma* using a TLC bioautography assay and GC-MS analysis. **Molecules**, v. 15, p. 7547-7557, 2010.

ZHONG, Z. F.; QIANG, W. A.; WANG, C. M.; TAN, W.; WANG, Y. T. Furanodiene enhances the anti-cancer effects of doxorubicin on ER $\alpha$ -negative breast cancer cells in vitro. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 774, p. 10-19, 2016.

ZUZARTE, M.; SALGUEIRO, L. Essential oils chemistry. In: DE SOUSA, D. P. **Bioactive Essential Oils and Cancer**, Switzerland: Ed. Springer International Publishing, p.19-61, 2015.