

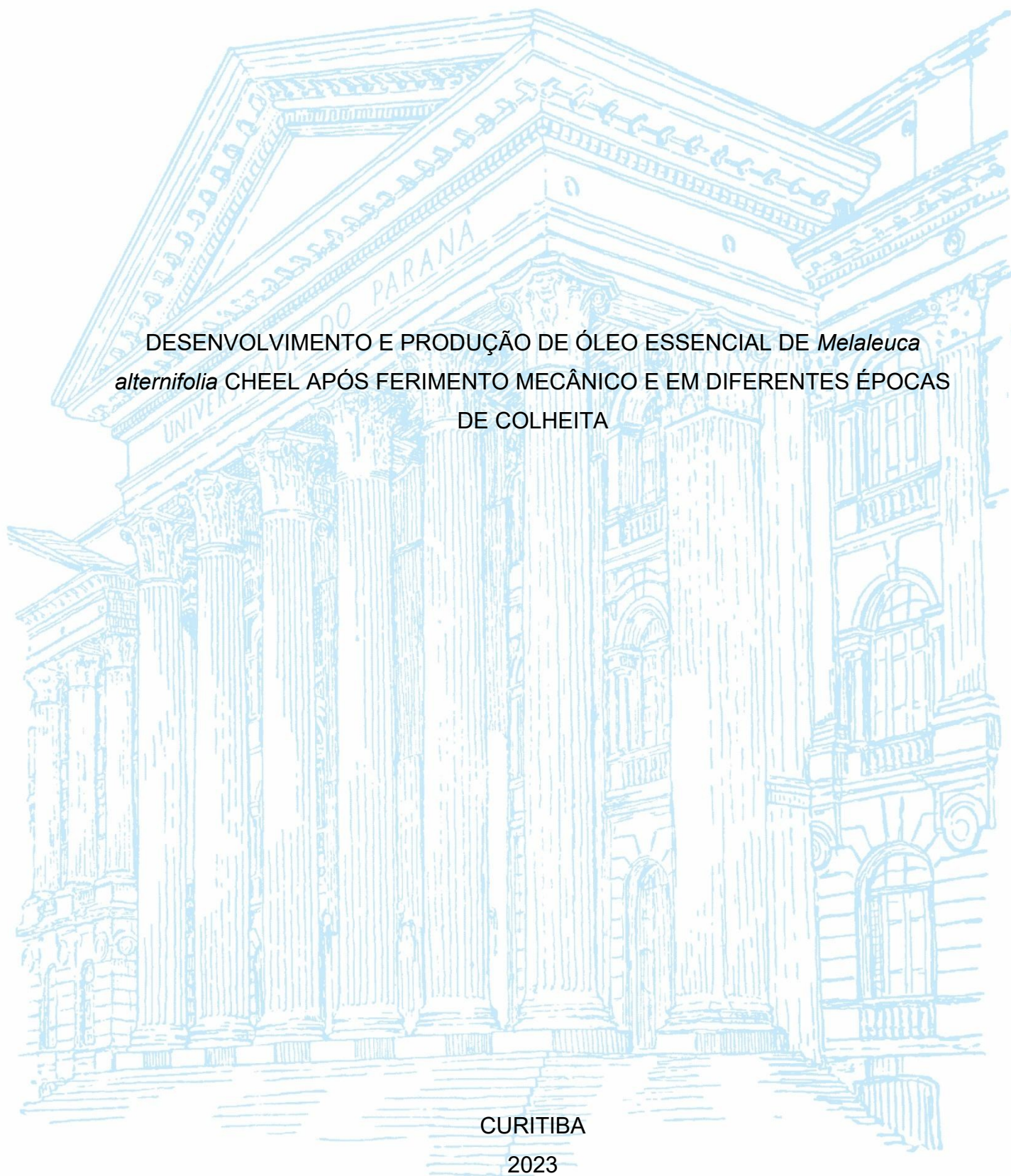
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NERY BORTOLON DE MATOS

DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca
alternifolia* CHEEL APÓS FERIMENTO MECÂNICO E EM DIFERENTES ÉPOCAS
DE COLHEITA

CURITIBA

2023



NERY BORTOLON DE MATOS

DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca
alternifolia* CHEEL APÓS FERIMENTO MECÂNICO E EM DIFERENTES ÉPOCAS
DE COLHEITA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
curso de Graduação em Engenharia Florestal,
Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal
do Paraná, como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Engenharia Florestal

Orientador: Prof. Dr. Cicero Deschamps

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Behling

CURITIBA

2023



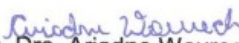
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

PARECER

Defesa nº 312

A Banca Examinadora, instituída pelo Colegiado do Curso de Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, após arguir **Nery Bortolon de Matos** em relação ao seu Trabalho de Conclusão de Curso intitulado **Desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel após fermento mecânico e em diferentes épocas de colheita**, é de parecer favorável à **APROVAÇÃO** na Disciplina ENGF010 - Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Florestal, condicionada a entrega da versão final corrigida.

Daniel Fernandes da Silva
Prof. Dr. Daniel Fernandes da Silva
1. Avaliador


Profa. Dra. Ariadne Waureck
2. Avaliadora


Prof. Dr. Cicero Deschamps
Orientador - Presidente da Banca

Curitiba, 15 de fevereiro de 2023.


Profa. Dra. Lucieli Rossi
Vice-Coordenadora do Curso de Engenharia Florestal em exercício

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente a meus pais, Maristela Bortolon de Matos e Odeny Dias de Matos, por sempre me apoiarem em meus projetos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Cícero Deschamps e ao meu coorientador Prof. Dr. Alexandre Behling, pela amizade e por terem se dispostos a me orientar no desenvolvimento deste trabalho. Agradeço ao Dr. Roger Raupp por me auxiliar na construção deste trabalho.

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

Aqueles com quem convivi no laboratório de Proteção Florestal e Ecofisiologia Vegetal, que me inspiraram e com os quais pude aprender e me desenvolver como profissional e pessoa.

A toda a comunidade da UFPR: amigos, técnicos administrativos, professores e funcionários terceirizados em todos esses anos.

A todos que de alguma forma cooperaram para a concretização deste trabalho.

“Em todo o espaço há energia... é só uma questão de tempo até que os homens tenham êxito em associar seus mecanismos ao aproveitamento desta energia”.

(Nikola Tesla)

RESUMO

Para aumentar a produtividade e qualidade do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel é necessário buscar estratégias silviculturais alternativas que possam impactar a produção vegetal com desenvolvimento do uso de técnicas tradicionais, dado que a pesquisa no meio florestal tem como principal finalidade alcançar o melhor aproveitamento dos recursos florestais no sentido de produtividade e de maior rendimento econômico. Diante deste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de ferimentos mecânicos e épocas sobre clone de *M. alternifolia* e a variabilidade nos teores e nas composições dos óleos essenciais por meio do uso de técnicas estatísticas multivariadas para averiguar a eficiência dos ferimentos mecânicos em épocas distintas no município de Pinhais, na área da Fazenda Experimental Canguiri, pertencente a Universidade Federal do Paraná. Para tal, foram selecionados 60 clones presentes na área de estudo, sendo medidos os diâmetros do tronco, teor de óleo essencial e suas composições. Foi realizada a extração do óleo essencial das folhas por hidrodestilação e a composição química analisada por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC/MS). Após foi aplicada a injúria mecânica com pregos sobre 30 clones selecionados, realizada a extração de óleo essencial e determinado os teores e a composição novamente. Foi utilizado o software SPSS para avaliar a eficiência dos ferimentos mecânicos realizando a inferência de médias entre dos dados por meio da Análise de Variância Multivariada (MANOVA) e também a análise de discriminantes sobre as seguintes variáveis dendrométricas e fitoquímicas: diâmetro do tronco (cm), teor de massa seca (%), peso da extração (mg), teor de óleo essencial (mg/g), teor de óleo essencial (%) e constituintes majoritários do óleo essencial. Quanto à sazonalidade, foi verificada alteração quantitativa nos teores e composição de todos os clones entre as épocas que ocorreram as extrações. Os teores de óleo essencial das amostras coletadas no verão tiveram maiores valores comparadas as amostras coletadas no outono e primavera, sendo que a maior presença dos constituintes principais de interesse obtiveram-se dos clones com a aplicação de ferimento mecânico devido ao estímulo das rotas metabólicas secundárias. Os resultados obtidos neste trabalho demonstram a ausência de efeitos estatisticamente significativos dos ferimentos mecânicos em relação a composição do óleo essencial do clone avaliado, sendo constatado apenas a variação sazonal.

Palavras-chave: Lesão mecânica. *Melaleuca alternifolia* Cheel. Composição química.

ABSTRACT

In order to increase the productivity and quality of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel, it is necessary to seek alternative silvicultural strategies that can impact plant production with the development of the use of traditional techniques, given that research in the forest environment has as its main purpose to achieve the best use of resources. forestry in terms of productivity and greater economic performance. Given this context, this study aimed to evaluate the effects of mechanical injuries and times on clones of *M. alternifolia* and the variability in contents and compositions of essential oils through the use of multivariate statistical techniques to ascertain the efficiency of mechanical injuries in different times in the municipality of Pinhais, in the area of the Fazenda Experimental Canguiri, belonging to the Federal University of Paraná. For this purpose, 60 clones present in the study area were selected, and the trunk diameters, essential oil content and compositions were measured. The essential oil was extracted from the leaves by hydrodistillation and the chemical composition was analyzed using gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC/MS). After the mechanical injury was applied with nails on 30 selected clones, the essential oil was extracted and the levels and composition were determined again. The SPSS software was used to evaluate the efficiency of mechanical injuries, performing the inference of means between the data through the Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) and also the analysis of discriminants on the following dendrometric and phytochemical variables: trunk diameter (cm) , dry mass content (%), extraction weight (mg), essential oil content (mg/g), essential oil content (%) and major constituents of essential oil. As for seasonality, there was a quantitative change in the contents and composition of all clones between the times in which the extractions took place. The essential oil content of the samples collected in the summer had higher values compared to the samples collected in the autumn and spring, and the greater presence of the main constituents of interest was obtained from the clones with the application of mechanical injury due to the stimulation of the secondary metabolic routes . The results obtained in this work demonstrate the absence of statistically significant effects of mechanical injuries in relation to the composition of the essential oil of the evaluated clone, being verified only the seasonal variation.

Keywords: Mechanical injury. *Melaleuca alternifolia* Cheel. Chemical composition.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ÁREA DE INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO NA FAZENDA EXPERIMENTAL CANGUIRI DA UFPR.....	28
FIGURA 2 – CLONES DE <i>Melaleuca alternifolia</i> CHEEL COM FERIMENTOS MECÂNICOS APLICADOS COM OS PREGOS EM DESTAQUE.....	31

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – TOTAL DE PRECIPITAÇÃO (mm), TEMPERATURA MÉDIA (°C), RADIAÇÃO SOLAR MÉDIA (°C) E UMIDADE RELATIVA MÉDIA (%) AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO NO AMBIENTE DE COLETA.....	29
GRÁFICO 2 – RESULTADOS DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES DO PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS COM OS RESPECTIVOS GRUPOS CENTRÓIDES PARA O CONJUNTO DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO EXPERIMENTO.....	38
GRÁFICO 3 – RESULTADOS DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES DO SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS COM OS RESPECTIVOS GRUPOS CENTRÓIDES PARA O CONJUNTO DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO EXPERIMENTO.....	39
GRÁFICO 4 – RESULTADOS DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES DO PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS COM OS RESPECTIVOS GRUPOS CENTRÓIDES PARA O CONJUNTO DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS AS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO DESCONSIDERANDO A DIFERENCIAÇÃO ESTATÍSTICA EM RELAÇÃO AOS FERIMENTOS MECÂNICOS E ÉPOCAS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.....	42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	– RESULTADOS OBTIDOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA MULTIVARIADA PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS COM AS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS AS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.....	36
TABELA 2	– RESULTADOS OBTIDOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA MULTIVARIADA PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS COM AS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS AS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.....	36
TABELA 3	– RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES A PORCENTAGEM DA VARIÂNCIA TOTAL EXPLICADA PELAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES OBTIDAS, RELATIVAS AOS AUTOVALORES ENCONTRADOS E COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO CANÔNICA PARA CADA UMA DAS FUNÇÕES....	37
TABELA 4	– RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES A PORCENTAGEM DA VARIÂNCIA TOTAL EXPLICADA PELAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES OBTIDAS, RELATIVAS AOS AUTOVALORES ENCONTRADOS E COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO CANÔNICA PARA CADA UMA DAS FUNÇÕES...	37
TABELA 5	– RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AO LAMBDA DE WILKS, QUI-QUADRADO, DIFERENÇA E SIGNIFICÂNCIA DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.....	40
TABELA 6	– RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AOS PESOS (CORRELAÇÕES CANÔNICAS) ENTRE AS VARIÁVEIS ORIGINAIS SELECIONADAS E AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.....	40
TABELA 7	– RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AO LAMBDA DE WILKS, QUI-QUADRADO, DIFERENÇA E SIGNIFICÂNCIA DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.....	41

TABELA 8 – RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AOS PESOS (CORRELAÇÕES CANÔNICAS) ENTRE AS VARIÁVEIS ORIGINAIS SELECIONADAS E AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.....	43
TABELA 9 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS DIÂMETRO, TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL, α -TUJENO E α -PINENO DOS FERIMENTOS MECÂNICOS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.....	43
TABELA 10 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS MIRCENO, α -FELANDRENO, α -TERPINENO E p -CIMENO DOS FERIMENTOS MECÂNICOS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.....	44
TABELA 11 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS LIMONENO, 1.8-CINEOL, γ -TERPINENO E TERPINOLENO DOS FERIMENTOS MECÂNICOS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.....	44
TABELA 12 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS TERPINEN-4-OL, α -TERPINEOL E AROMADENDRENO DOS FERIMENTOS MECÂNICOS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.....	44
TABELA 13 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS BICICLOGERMACRENO e δ -CADINENO DOS FERIMENTOS MECÂNICOS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.....	44
TABELA 14 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.....	47

TABELA 15	– COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.....	47
TABELA 16	– COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.....	47
TABELA 17	– COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.....	47
TABELA 18	– COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA NORMA REGULAMENTADORA INTERNACIONAL ISO 4730 DE 2007.....	48
TABELA 19	– RESULTADOS DAS MÉDIAS DE TODAS AS VARIÁVEIS DO PRIMEIRO CONJUNTO EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.....	49

LISTA DE SIGLAS

ATTIA	- Associação Australiana da Indústria da árvore do chá
C	- Carbonos
CAGR	- Taxa de Crescimento Anual Composta
IAT	- Instituto Água e Terra
ISO	- Organização Internacional para Padronização
rpm	- Rotações por minuto
SPSS	- Pacote Estatístico para Ciências Sociais
μL	- Microlitros
$\Delta t\text{ }^{\circ}\text{C}$	- Variação em graus Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Objetivo geral	17
1.1.2 Objetivos específicos	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 <i>Melaleuca alternifolia</i> CHEEL	18
2.1.1 Descrição da espécie	18
2.1.2 Óleo essencial	19
2.1.3 Mercado global e nacional	22
2.2 FERIMENTO MECÂNICO	23
2.2 ÉPOCAS DE COLETA	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 EXPERIMENTO	28
3.2 MENSURAÇÃO DAS VARIÁVEIS E APLICAÇÃO DOS FERIMENTOS MECÂNICOS	30
3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICE 1 – TABELAS DE DADOS	60

1 INTRODUÇÃO

A *Melaleuca alternifolia* Cheel é fonte de medicina para a população humana há milhares de anos, sendo bastante utilizada pelos povos originários da Austrália para tratar sintomas gripais (BARRADAS, 2020). Atualmente, suas propriedades químicas e farmacológicas têm sido exploradas e desenvolvidas por pesquisas que utilizam equipamentos e técnicas modernas para analisar seu óleo essencial. Para tal, o estudo de técnicas primordiais aliadas às análises avançadas possui potencial para novas oportunidades no seu crescente mercado global.

O gênero *Melaleuca*, pertencente à família Myrtaceae, inclui aproximadamente 100 espécies nativas da Austrália e ilhas do Oceano Índico. *Melaleuca alternifolia* é comumente conhecida na Austrália como árvore do chá, florescendo principalmente em áreas de pântano, próximas de rios. O principal produto é o óleo essencial extraído da planta por hidrodestilação e destilação por arraste a vapor (CARSON *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

O mercado global de óleo da árvore do chá atingiu um valor de US \$47,76 milhões em 2021 (IMARC GROUP, 2023). Abel e Roshan (2019) afirmam que na análise global do mercado do óleo da árvore do chá, a Austrália é o maior produtor de óleo da árvore do chá. A partir de 2015, a Austrália produziu 700 toneladas de óleo anualmente. Além da Austrália, esse tipo de óleo também é produzido na China, África do Sul, Quênia, Indonésia e Tailândia.

O Paraná está entre os maiores produtores do óleo de melaleuca, além do estado, há produção do óleo de melaleuca nos estados do Ceará, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Santa Catarina e São Paulo, porém, ainda é necessário adquiri-la através da importação, sendo escassa a sua produção para as indústrias de cosméticos (BUENO *et al.*, 2021).

O ferimento mecânico é uma técnica para as plantas com poucos estudos na área de óleos essenciais de plantas medicinais, sendo, à luz da modernidade, uma ótima alternativa para pesquisa sobre seus efeitos em culturas com interesse comercial como a melaleuca. Teorias modernas estabelecem que todos os metabólitos secundários se expressam como resultado de estímulos e se integram com os sistemas receptores adequados (ZHAO *et al.*, 2005).

Diante deste contexto, este trabalho avaliou o crescimento e a produção do óleo essencial de amostras clonais de *Melaleuca alternifolia* Cheel com aplicação de ferimento mecânico em diferentes épocas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Determinação do efeito de ferimentos mecânicos e épocas sobre o crescimento e na composição do óleo essencial de clone de *Melaleuca alternifolia* Cheel.

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliação de características biométricas das plantas selecionadas mediante a medição das variáveis diâmetro do tronco (cm) e teor de massa seca das folhas (%) após ferimentos mecânicos em épocas de colheitas;
- Medição das variáveis peso da extração (mg), teor de óleo essencial (mg/g), teor de óleo essencial (%) e sua composição química para avaliação de características fitoquímicas das plantas selecionadas após ferimentos mecânicos em épocas de colheitas;
- Inferência sobre médias por meio da MANOVA para amostras pareadas com as variáveis do diâmetro do tronco (cm), teor de massa seca (%), peso da extração (mg), teor de óleo essencial (mg/g), teor de óleo essencial (%) e os componentes principais para averiguar a eficiência dos ferimentos mecânicos e a variação sazonal;
- Análise de discriminantes com as variáveis do diâmetro do tronco (cm), teor de massa seca (%), peso da extração (mg), teor de óleo essencial (mg/g), teor de óleo essencial (%) e os componentes majoritários de sua composição química para averiguar a eficiência dos ferimentos mecânicos e a variação sazonal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Melaleuca alternifolia* CHEEL

2.1.1 Descrição da espécie

Antes mesmo da chegada dos europeus em suas terras, os indígenas da Austrália faziam o uso do extrato de *Melaleuca alternifolia* para o tratamento de feridas e infecções de pele (BARCELOUX, 2008).

Acredita-se que os aborígenas Bundjalung, do leste da Austrália, tenham sido os primeiros a explorar os poderes curativos da árvore do chá há centenas de anos. Inalavam o óleo das folhas esmagadas para tratar a tosse e catarros respiratórios, aplicavam as folhas em feridas, abrasões e picadas de inseto e faziam infusões para o alívio da odinofagia (BARRADAS, 2020).

No século XVIII, o capitão James Cook deu à planta o nome “árvore do chá” porque observou que os aborígenas preparavam um chá curativo com folhas de melaleuca.

Mais tarde, Arthur Penfold publicou os primeiros relatos da atividade antimicrobiana do óleo de árvore do chá numa série de artigos datados das décadas de 1920 e 1930. Nestes estudos, o óleo foi classificado como 11 a 13 vezes mais ativo que o fenol (o antisséptico de referência na altura), sendo também mais seguro para aplicação tópica. Com estes estudos nasceu a indústria da árvore-do-chá (BARRADAS, 2020).

A fabricação comercial do óleo de melaleuca teve início apenas no ano de 1920, na Austrália, impulsionado por uma série de publicações feitas pelos pesquisadores Penfold e Grant, que afirmavam sua atividade antimicrobiana (CARSON *et al.*, 2006).

Ao longo da década de 1930, inúmeros médicos australianos documentaram o uso do óleo no decorrer de sua prática profissional. Nessa mesma época, os pesquisadores Penfold e Morrison relataram a funcionalidade do óleo de melaleuca como cicatrizante, antisséptico, no tratamento de empiema, doenças ginecológicas e da região da orofaringe (CARSON *et al.*, 2006).

Nas décadas de 1950 e 1960 a sua produção diminuiu com o desenvolvimento dos antibióticos, voltando o interesse a ressurgir apenas no início

dos anos 70, com o aparecimento do mercado dos produtos naturais (ATTIA, 2023), acarretando com o surgimento de grandes plantações de *Melaleuca alternifolia* na Austrália Ocidental, Queenslande New South Wales (BARCELOUX, 2008).

Recentemente, o seu uso tem aumentado também devido à crescente resistência dos microrganismos aos antibióticos (ATTIA, 2023).

A melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) comumente conhecida como “tea tree” pertence à família Myrtaceae, subfamília *Leptospermoideae*, e ocorre principalmente na Austrália, Malásia e Polinésia (CRONQUIST, 1981; RUSSEL *et al*, 2002).

As plantas do gênero *Melaleuca* abrangem cerca de 230 espécies, sendo a maior parte delas originária da Austrália e das ilhas do Oceano Índico. De modo geral, são arbóreas e se encontram dispersas pelas regiões tropicais e subtropicais, desenvolve-se bem em regiões onde as temperaturas oscilam entre 25 °C e 32 °C, florescendo em áreas de pântano e próximo de rios (BARCELOUX, 2008; COLTON; MURTAGH, 2005).

A árvore de *Melaleuca alternifolia* cresce em áreas pantanosas e próximas de cursos de água da região costeira subtropical de New South Wales na Austrália, tendo melhor crescimento em áreas de alta pluviosidade ou áreas com irrigação. A primeira colheita é realizada no período de 1 a 3 anos dependendo do clima e do crescimento (BURFIELD e SHEPPARDHANGER, 2000 *apud* MIRANDA, 2014).

As plantas dessa espécie podem atingir até 5 metros de altura com ritidoma fino, leve e flexível, folhas alongadas, pontiagudas, estreitas e alternas, suas flores são sésseis com coloração branca, que florescem no verão (SILVA *et al.*, 2002).

Elas fazem parte do grupo das angiospermas eudicotiledôneas. Apresentam ótimo desenvolvimento em solos ricos em matéria orgânica e também estão adaptadas para solos úmidos, ácidos e levemente salinos (DORAN; TURNBULL, 1997).

2.1.2 Óleo essencial

A espécie é valorizada pelo potencial de suas propriedades bactericidas, antiviral, antifúngica, inseticida (OLIVEIRA *et al.*, 2011) e antitumoral (GREAY *et al.*, 2010). A principal utilização desta planta está associada à extração de óleo essencial, retirado de suas diversas partes vegetativas, mas principalmente das

folhas. Em função da alta concentração das glândulas secretoras de óleo localizadas nessa região (SILVA *et al.*, 2002).

Os fatores edafoclimáticos aliados às técnicas adequadas de manejo podem contribuir com aspectos de qualidade das plantas (COLTON; MURTAGH, 2005) e do óleo essencial, que é extraído principalmente pelo método de destilação por arraste a vapor ou hidrodestilação (LUIZ, 2017).

O armazenamento dos óleos essenciais nas plantas ocorre em estruturas secretoras internas (células parenquimáticas diferenciadas, bolsas esquizógenas ou lisígenas e canais oleíferos) e externas (tricomas glandulares), que podem ser extraídos por meio dos métodos de enfloração, hidrodestilação, prensagem a frio, extração com solventes e extração com CO² supercrítico, sendo usados os diferentes métodos de acordo com o valor comercial do produto e órgão da planta onde se concentra o óleo essencial (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

O óleo essencial caracteriza-se como um dos produtos florestais não madeireiros, sendo que o aproveitamento parcial das folhas com manutenção de tecido fonte não interfere em nenhum outro componente da árvore, viabilizando o uso múltiplo da espécie, que se associa às outras produções viáveis a partir da madeira (MIRANDA e CARMO, 2009).

Conforme a ISO 9325 (2013), óleos essenciais são produtos obtidos a partir de uma matéria-prima natural, de origem vegetal, por meio de destilação a vapor, bem como os produtos obtidos por processamentos mecânicos dos pericarpos dos frutos cítricos, ou por destilação seca, após a separação da fase aquosa – se houver – por processos físicos. Podem ser acumulados em diversos tipos de órgãos dos vegetais (raízes, rizomas, cascas, folhas, flores, frutos e sementes).

Óleos essenciais representam uma pequena fração na composição das plantas, pois conferem características únicas, como aromaticidade, característica essa que poderá classificar plantas em aromáticas ou não-aromáticas, sendo as primeiras largamente utilizadas nas indústrias farmacêuticas, de alimentos e de fragrâncias. Apresentam composição complexa, podendo conter diversos componentes, especialmente hidrocarbonetos (terpenos e sesquiterpenos) e compostos oxigenados (álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos, dentre outros). Ambos os

componentes hidrocarbonetos e oxigenados são responsáveis pelos sabores e odores característicos (POURMORTAZAVI e HARJIMIRSADEGHI, 2007).

O óleo de melaleuca apresenta uma coloração transparente a amarela-clara e um odor forte, terebentinoso e canforado. Pode ser obtido através das plantas das espécies *M. alternifolia*, *M. linariifolia* e *M. dissitiflora*. No entanto, na prática, quase todo o óleo de melaleuca comercializado é obtido através da *M. alternifolia*, uma vez que é a espécie que apresenta o crescimento mais rápido e, por isso, mais interessante do ponto de vista comercial. A percentagem de óleo essencial obtido através da destilação das folhas e dos ramos terminais da planta varia entre 1,0% e 1,8% (BARRADAS, 2020).

A constituição química do óleo possui aproximadamente 100 componentes, sendo o Terpinen-4-ol, o γ -Terpineno e o α -Terpineno os mais abundantes e principais responsáveis pelas suas propriedades medicinais (CARSON *et al.*, 2006). Além destes, a International Organization for Standardization (ISO), no documento ISO 4730: 2017, especifica os níveis de 15 dos mais de 113 componentes encontrados no óleo de melaleuca puro, bem como alguns parâmetros físicos (BARRADAS, 2020).

Tal legislação regulamenta a composição do óleo da *M. Alternifolia* e estabelece limites máximos e mínimos para 15 componentes do óleo. Os principais componentes segundo a mesma são terpinen-4-ol e 1,8-cineol. O terpinen-4-ol é o marcador da planta, com teor indicado acima de 35%, e o 1,8-cineol não deve exceder 15%, pois este composto não interfere significativamente na ação terapêutica e possui propriedades altamente tóxicas e irritantes. Normalmente os valores encontrados destes dois componentes são de 40% e 3%, respectivamente (ISO, 2017; MIRANDA, S. H. S., 2014).

De acordo com o comitê australiano, para que o óleo da árvore do chá tenha atividade antisséptica, ele deve conter quantidade de cineol abaixo de 15% e de terpinen-4-ol acima de 30% (International Organisation for Standardisation, 2004). O Terpinen-4-ol está presente em 30-40% da composição (CARSON *et al.*, 2006).

A composição química é extremamente variável, dependendo principalmente da biomassa utilizada (plantas selvagens ou cultivadas; apenas folhas ou folhas e ramos terminais), do quimiotipo (existem 6 quimiotipos diferentes) e do modo de

preparação (destilação a vapor comercial ou hidrodestilação laboratorial com aparelho “tipo Clevenger”) (GROOT e SCHMIDT, 2016).

O acondicionamento, transporte e armazenamento também são relevantes à qualidade do produto final, pois tem sido sugerido que o armazenamento prolongado provoca o aparecimento de produtos de oxidação que são os principais alérgenos (HAMMER *et al.*, 2006).

A composição pode sofrer influências de vários fatores, dentre eles o tempo de armazenamento, presença de luz, calor, exposição ao ar e umidade, os quais podem afetar a estabilidade do óleo. Portanto, ele deve ser armazenado preferencialmente no escuro, sob baixa temperatura, sem umidade e com pouca quantidade de ar (CARSON *et al.*, 2006).

O óleo de melaleuca é comercializado sob a forma de óleo 100% puro ou em soluções com concentrações geralmente entre 2 e 5% (GROOT e SCHMIDT, 2016).

A Austrália é o principal país produtor da árvore do chá, mas a China, a África-do-sul e o Vietnã também cultivam e comercializam esta planta, embora em menor quantidade (GROOT e SCHMIDT, 2016).

2.1.3 Mercado global e nacional

Espera-se que o mercado atinja um valor de US \$65,67 milhões até 2027, exibindo um CAGR de 5,20% durante 2022-2027 (IMARC GROUP, 2022). O tamanho do mercado global de tea tree oil foi de US \$53 milhões em 2021 e deve registrar receita CAGR de 5,9% durante o período até o ano de 2030.

O aumento do conhecimento das vantagens para a saúde do óleo essencial da árvore do chá, por ser um remédio natural bem conhecido para prevenção de infecções, cicatrização de feridas e doenças bacterianas e fúngicas da pele devido à sua capacidade de eliminar germes, é um fator importante que impulsiona o crescimento da receita do mercado (EMERGEN RESEARCH, 2022).

Apesar de a *Melaleuca alternifolia* ser nativa da Austrália, ela vem sendo cultivada em várias partes do mundo, inclusive no Brasil (MONTEIRO *et al.*, 2013). Porém, a área cultivada ainda é pequena, o que acaba exigindo que as indústrias importam grande parte da matéria-prima, tornando o produto final com custo

elevado. A limitada produção brasileira relaciona-se com a ausência de informações técnicas e de manejo da espécie (CASTRO *et al.*, 2005).

No Brasil a produção ainda é pequena e a indústria que necessita desta matéria-prima ou de seus compostos isolados têm suprido a sua demanda por meio da importação (CASTELO *et al.*, 2013).

Os plantios da espécie no Brasil também são tímidos, sendo principalmente de pequenos produtores. As áreas plantadas no Brasil representam menos de 100 hectares, sendo 35 hectares no estado de São Paulo (Piedade, Ibiúna, São Pedro e Batatais), 12 hectares na Bahia (Ituaçu), 6 hectares no Mato Grosso (Chapada dos Guimarães) e 0,5 hectares no Mato Grosso do Sul (Maracaju) (SANTOS *et al.*, 2021).

A produção média anual de óleo essencial de melaleuca foi de 81,82 L por ha, a partir de aproximadamente 48 toneladas de material vegetal destilado. Foram produzidos, em média, 150 mL de óleo essencial por dia, a partir de cerca de 88 kg de material vegetal (CASTRO *et al.*, 2005).

Foi considerado apenas o óleo essencial como único produto do beneficiamento, mas posteriormente era esperada a comercialização da água residual da destilação, que contém 2% de óleo essencial emulsificado. O preço de comercialização do óleo essencial foi de R\$150,00 por litro (CASTRO *et al.*, 2005).

O mercado é impulsionado principalmente pela mudança de preferência dos consumidores por produtos cosméticos enriquecidos com ingredientes naturais. Isso pode ser atribuído à crescente demanda por produtos fitoterápicos orgânicos e de rótulo limpo e à crescente conscientização sobre os efeitos adversos dos produtos químicos sintéticos (IMARC GROUP, 2022).

2.2 FERIMENTO MECÂNICO

Segundo Cheong *et al.* (2002) o ferimento é um dano comum que ocorre em plantas como resultado de fatores de estresse abiótico, como vento, chuva, granizo e de fatores bióticos, especialmente insetos alimentando e a técnica de acupuntura vegetal.

De acordo com Hou e Li (1997), podemos pensar em acupuntura vegetal como uma lesão mecânica à planta. Quando a planta é ferida mecanicamente, com a lesão ocorre uma série de alterações hormonais, por exemplo, a auxina causa

alterações no potencial de membrana (VOROBIEV e MANUSADZIANAS, 1983) e provoca transientes de tensão (PICKARD, 1984). Estas mudanças agem principalmente para acelerar a recuperação de tecidos vegetais (HANSON E TREWAVA, 1982) integração ideal da atividade metabólica tanto no curto quanto no longo prazo.

Quando diferentes partes de uma planta sofrem injúria, a resposta do vegetal pode ocorrer de diferentes formas (BUCHANAN *et al.*, 2000).

Em contato com alguma forma de estresse do ambiente, as células vegetais respondem utilizando uma grande variedade de barreiras mecânicas e princípios de defesa já existentes de forma natural, essas defesas pré-existentes são denominadas constitutivas, inespecíficas ou estáticas (STICHER *et al.*, 1997; TUZUN, 2001; JONES e DANGL, 2006).

Para se adaptar às diferentes adversidades do ambiente, as plantas possuem mecanismos de defesa ainda mais eficientes, inativos ou latentes. A simples exposição ou o contato permanente com algum agente eliciador ativa esses mecanismos. Essa ativação promove uma série de alterações bioquímicas, com o objetivo de adaptar a planta à forma de estresse, alterando o estado fisiológico das células (COLSON E DEVERALL, 1996; STICHER *et al.*, 1997; VALLAD e GOODMAN, 2004).

A elicitação é uma das técnicas mais eficazes atualmente utilizadas para melhorar a produção de compostos químicos de interesse, como os metabólitos secundários (AMORIM, 2003). O efeito dos elicitores depende de muitos fatores, tais como: concentração, tempo de elicitação e o estágio de crescimento da cultura no momento da estimulação. Os elicitores, dependendo de como agem no vegetal, podem ser bióticos ou abióticos (DAKORA; MATIRU; KANU, 2015).

Para designar os fenômenos pelos quais as plantas, ao serem expostas a um agente eliciador, ativam mecanismos de defesa, não apenas no sítio de indução como também em locais distantes dele e de forma generalizada, são utilizadas as denominações, resistência sistêmica induzida (ISR) e resistência sistêmica adquirida (SAR). Esses agentes eliciadores podem ser bióticos como extratos celulares e microrganismos vivos, ou abióticos como temperatura, umidade, poluição, luminosidade, estresse mecânico e nutritivo, ou ainda ativadores químicos (SILVA *et al.*, 2008).

O estresse provocado por um agente induz a defesa tanto na região diretamente em contato com esse agente (resposta local), quanto em áreas distantes (resposta sistêmica). Para o perfeito desenvolvimento desses mecanismos, as células vegetais fazem uso de vias de transdução de sinais, muitas das quais identificadas e parcialmente caracterizadas (LEÓN *et al.*, 2001).

A sinalização ocorre pela percepção do sinal, mediada por receptores celulares capazes de interagir com um determinado eliciador. A transdução do sinal promove a sua amplificação direta ou indireta (GUZZO, 2004).

2.3 ÉPOCAS DE COLETA

A síntese e a composição dos óleos essenciais, em diversas plantas aromáticas, são influenciadas pelo genótipo, o estágio de desenvolvimento da planta e as condições ambientais (MAROTTI *et al.*, 1994).

A produtividade e a variabilidade fitoquímica do óleo essencial em espécies aromáticas estão relacionadas à fase de desenvolvimento, idade da planta, órgão de armazenamento (SANGWAN *et al.*, 2001).

A concentração de metabólitos secundários em plantas é controlada por aspectos genéticos e também pelas interações entre o genótipo e o ambiente (SILVA *et al.*, 2002) variando conforme as condições climáticas (GALDINO *et al.*, 2006), a concentração de nutrientes no solo (MAPELI *et al.*, 2005), a época de coleta no ano (CASTELO *et al.* 2012), o que também ocorre com a produção do óleo essencial na planta.

A natureza dos constituintes químicos de uma espécie vegetal é muito influenciada por características relacionadas ao local e época de coleta. Fatores como sazonalidade, índice pluviométrico, temperatura, altitude, características do solo, presença de outras espécies, produção *in vitro*, etc., são determinantes para a quantidade e qualidade dos metabólitos secundários produzido pelas plantas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

GOBBO-NETO e LOPES (2007) citam que os fatores bióticos e abióticos estão intimamente relacionados e não atuam isoladamente, podendo influir em

conjunto no metabolismo secundário, tais como desenvolvimento e sazonalidade; índice pluviométrico e sazonalidade; temperatura e altitude, entre outros.

As reduções sazonais na biossíntese de óleo essencial refletem um possível desvio de rotas metabólicas em favor da manutenção e/ou sobrevivência das plantas sob condições adversas (DESCHAMPS *et al.*, 2008).

Diversos fatores influenciam na qualidade e na composição química de um óleo essencial, incluindo a composição do solo, temperatura e clima de cultivo, presença de agrotóxico, época de colheita, partes utilizadas da planta, a espécie botânica, exposição ao sol, ventos entre outros (LÁSZLO, 2008).

Quanto ao cultivo, o teor e a composição do óleo essencial das plantas aromáticas dependem de diferentes fatores. As condições do solo, clima, origem geográfica, época de colheita, fertilizantes e a nutrição mineral podem afetar consideravelmente a produção e a qualidade do óleo essencial (SALES *et al.*, 2009).

Experimentos sobre condições bem controladas têm demonstrado que variações no ambiente (temperatura, irradiação e fotoperíodo) podem influenciar positivamente ou negativamente no rendimento da biomassa e na qualidade do óleo essencial em plantas aromáticas (BRANT *et al.*, 2009).

A acumulação de metabólitos nas plantas ocorre frequentemente em situações de estresse (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011), sendo influenciada por inúmeros fatores ambientais, tais como a qualidade da luz, radiação ultravioleta, temperatura, recursos hídricos, presença de nutrientes, entre outros (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; ZORATTI *et al.*, 2014).

O conhecimento da ocorrência da variabilidade sazonal na produção de compostos ativos é um dos principais parâmetros a serem considerados no planejamento de cultivos de populações silvestres de plantas medicinais nativas ou domesticadas para garantir a qualidade da matéria-prima e, conseqüentemente, dos metabólitos secundários presentes na planta (CASTELLANI *et al.*, 2006).

As plantas medicinais apresentam diferentes estágios de desenvolvimento durante as estações do ano. Essas variações podem gerar alterações no perfil químico do óleo essencial, comprometendo a qualidade do composto bioativo, além

de impactar na atividade biológica da espécie (PARKI *et al.*, 2017; PRINSLOO e NOGEMANE, 2018).

A influência da época de colheita na composição química, portanto, na bioatividade pode ser decorrente de mudanças climáticas como temperatura, solo, umidade, chuvas, bem como diferentes estágios de desenvolvimento da planta (PARKI *et al.*, 2017; PRINSLOO e NOGEMANE, 2018).

A produção de metabólitos secundários, responsáveis pelas atividades terapêuticas das plantas medicinais, pode sofrer diversos fatores como sazonalidade, temperatura, luminosidade, disponibilidade hídrica, adubação, ataque de pragas ou doenças e genótipos (GOBBO-NETO e LOPES, 2007; MATIAS *et al.*, 2016; PRINSLOO e NOGEMANE, 2018).

O óleo essencial manteve as características organolépticas durante os quatro meses de extração no ano de 2021. Quando comparadas as amostras entre si, constatou que não houve alterações na composição química das duas primeiras extrações realizadas no final do período chuvoso, mas, nas amostras de junho e julho, foi possível observar o desaparecimento de alguns constituintes e o aparecimento de outros, apesar disso, os compostos majoritários foram os mesmos em todas as amostras analisadas (OLIVEIRA, 2021).

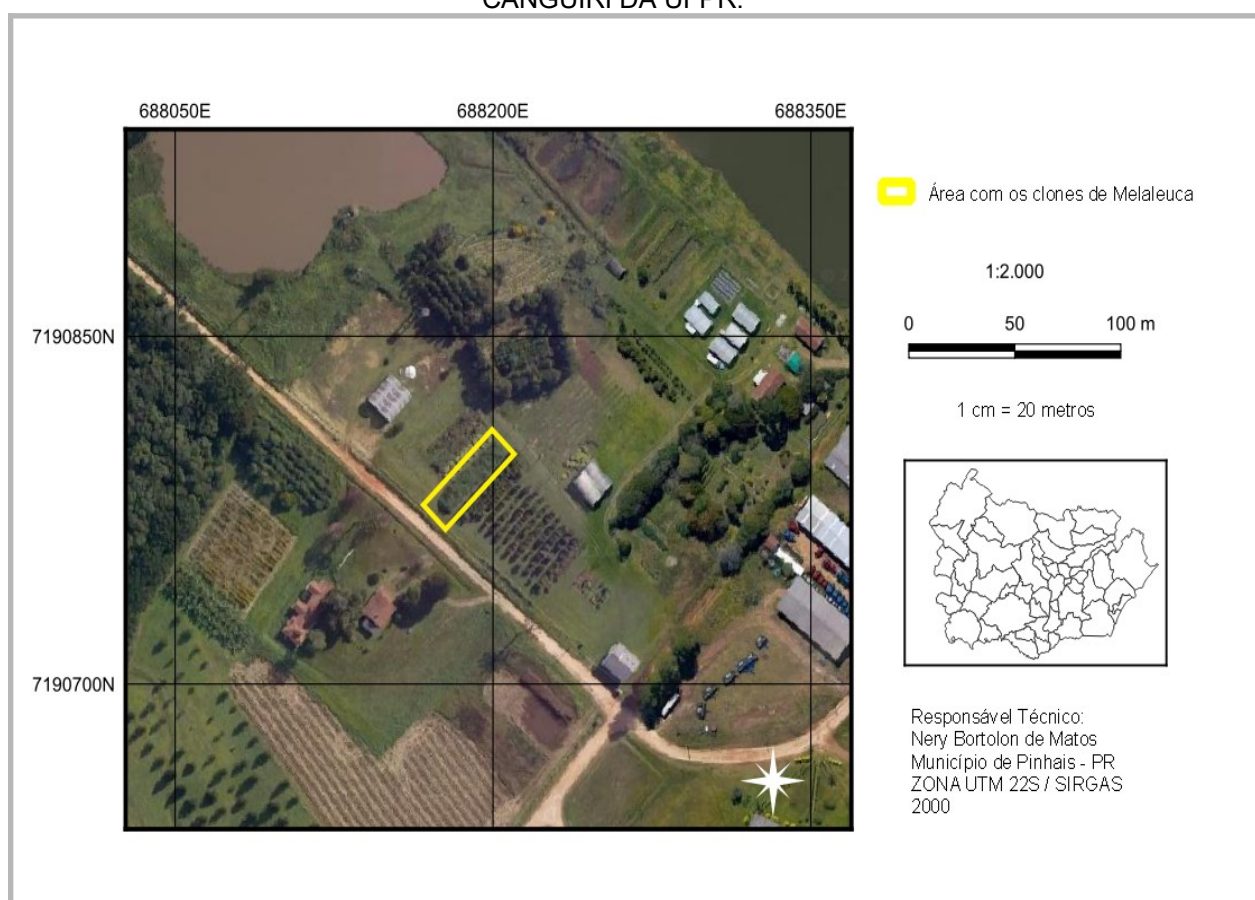
SILVA (2001) estudou alguns dos possíveis aspectos externos que podem influenciar na produção dos óleos essenciais de *M. alternifolia* cultivada em Minas Gerais, analisando o efeito do clima e a influência do ciclo circadiano. As variações ambientais que ocorrem ao longo do ano e ao longo do dia, entre elas na taxa de umidade relativa do ar e na insolação, podem afetar o comportamento das plantas produtoras de óleos essenciais alterando o padrão de sua produção natural (CASTELO *et al.*, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 EXPERIMENTO

A área de instalação dos experimentos foi na área de plantas medicinais da Fazenda Experimental Canguiri da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizado no bairro Jardim das Nascentes, na cidade de Pinhais (FIGURA 1).

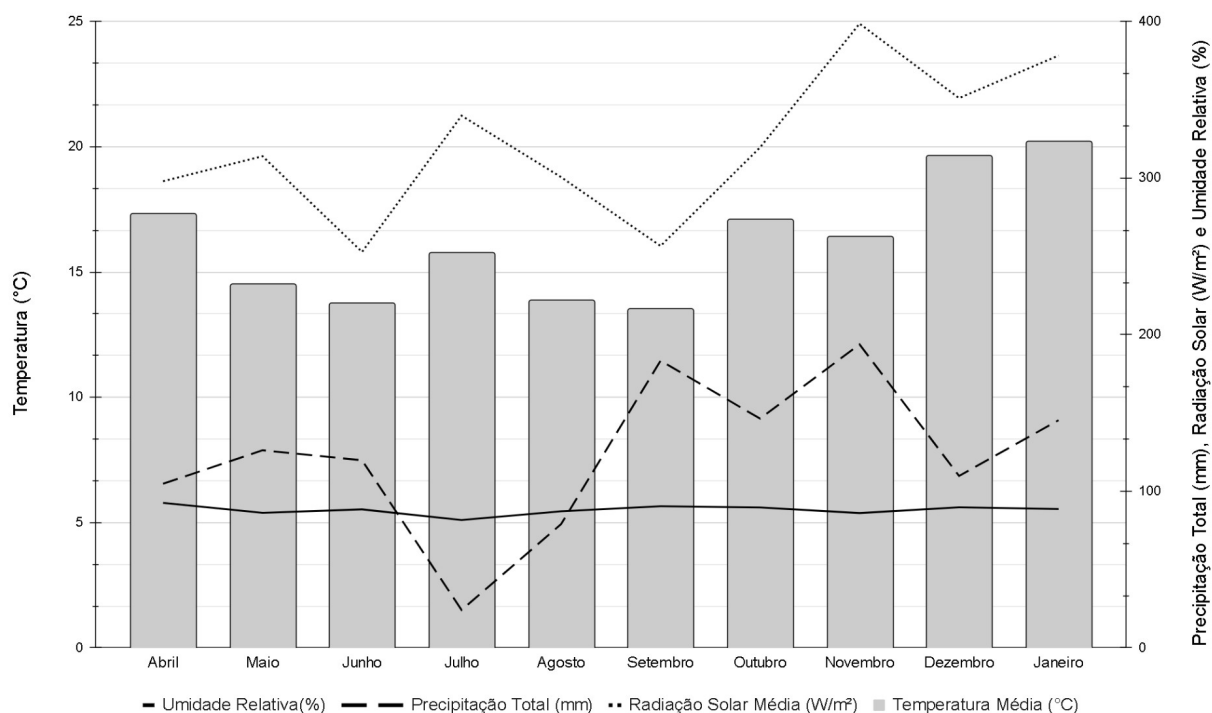
FIGURA 1 – ÁREA DE INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO NA FAZENDA EXPERIMENTAL CANGUIRI DA UFPR.



FONTE: O autor (2023).

Aproximadamente a 893 m de altitude, 25° 23 '30 " S de latitude e 49° 07' 30" W de longitude. O clima da região, segundo a classificação de Koppen, é classificado como Cfb, caracterizado por apresentar precipitação média anual de 1400 mm, temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, estando sujeito a geadas severas (IAT, 2008).

GRÁFICO 1 – TOTAL DE PRECIPITAÇÃO (mm), TEMPERATURA MÉDIA (°C), RADIAÇÃO SOLAR MÉDIA (°C) E UMIDADE RELATIVA MÉDIA (%) AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO NO AMBIENTE DE COLETA.



FONTE: SIMEPAR (2023).

O delineamento experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado, sendo cada clone tomado com uma repetição totalizando 60 amostras selecionadas para o experimento. As amostras clonais do experimento originaram-se de plantas de sementes implantadas anteriormente na área de plantas medicinais que foram caracterizadas e selecionadas quanto ao maior teor de óleo essencial e melhor perfil fitoquímico.

Após a seleção da melhor planta seminal, foram realizadas estacas para introdução no campo e produção de óleo essencial. Essas plantas clonais estavam plantadas em campo no início do experimento em 2022 com um porte adulto e nenhum indício de problema fitossanitário, além disso as amostras já haviam sido coletadas para extração de óleo essencial com resultados satisfatórios.

As técnicas e os processos utilizados para realizar a pesquisa foram: o caminhar, monitoramento, medição de diâmetro do tronco principal, aplicação de fermento mecânico, colheita das plantas e separação das folhas, extração de óleo essencial, avaliação do desenvolvimento e produção das plantas através de

análises estatísticas com as variáveis morfométricas e fitoquímicas das medições de diâmetro do tronco principal e do óleo essencial extraído por meio de análise laboratorial.

No período entre os anos de 2022 e 2023, foram realizadas todas as atividades descritas, sendo iniciada a pesquisa com o monitoramento e avaliação dos clones de *Melaleuca alternifolia* Cheel plantados no campo da área experimental de medicinais no mês de janeiro de 2022. Uma tabela simples foi utilizada para monitorar as características do plantio clonal do experimento e a identificação taxonômica da espécie foi necessária visto que a procedência do material utilizado para clonagem foi diverso, a identificação foi segundo o registro EFC 16427 do Herbário Escola de Florestas Curitiba (EFC – UFPR).

No mês de março de 2022, a técnica de caminhamento foi utilizada para fazer a seleção das amostras na área de pesquisa. A seleção das plantas coletadas dentro da unidade de trabalho seguiu com base em referências literárias e análise de características morfológicas gerais que mantivessem a homogeneidade da amostra para o experimento, sendo metade tomada como amostra de controle (sem aplicação de ferimentos mecânicos) e a outra metade como amostra com aplicação de ferimentos mecânicos.

3.2 MENSURAÇÃO DAS VARIÁVEIS E APLICAÇÃO DOS FERIMENTOS MECÂNICOS

No mês de abril de 2022, foi realizada a medição do diâmetro do tronco principal a altura de 20-30 centímetros (altura antes de ocorrer a primeira bifurcação que possibilitou medições nas 3 épocas de extração), a colheita de todos os clones selecionados e a separação das folhas, nesta etapa ocorreu a separação por planta e pesagem de cerca 200-300 gramas de material vegetal predominante com folhas retiradas dos galhos. Posteriormente, no laboratório foram realizadas as extrações de óleo essencial das folhas, pesagem em balança de precisão, secagem para aferição do teor de massa seca e avaliação por cromatografia gasosa.

Na maioria das plantas medicinais o maior teor de óleos essenciais ocorre pela manhã, no entanto a colheita deve ser feita após evaporação do orvalho, pois o

teor de óleo pode diminuir devido à maior umidade presente (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 1994). Concentrou-se em realizar as coletas no período da manhã com auxílio de tesouras de podas, sendo coletados os ramos secundários e/ou terciários em diferentes posições da estrutura do clone em que houvesse folhas para a extração do óleo essencial e o preparo das amostras para medição do teor de massa seca.

No mês de maio de 2022, foi aplicado ferimento mecânico nas plantas selecionadas com o auxílio de pregos de duas dimensões diferentes com bitolas de 17x27 e 18x36 conforme descrição do fabricante (FIGURA 2).

FIGURA 2 – CLONES DE *Melaleuca alternifolia* CHEEL COM FERIMENTOS MECÂNICOS APLICADOS COM OS PREGOS EM DESTAQUE.



FONTE: O autor (2023).

O ferimento foi condicionado à estrutura e o porte das plantas, sendo que dependendo dos níveis de desenvolvimento que cada indivíduo apresentava, foram tomadas como padrão a aplicação de ferimento mecânico a partir da base da planta até 1,5-2 metros conforme fosse viável a aplicação. Os clones selecionados receberam ferimento mecânico no tronco principal e 1ª ramificações rentes aos pontos internos e externos das gemas axilares desenvolvidas, para tanto os locais de colocação dos pregos no tronco principal seguiram a posição da gema axilar como referência e uma angulação de 45° ao eixo do ponto de inserção.

Após esta etapa, no mês de setembro de 2022 e janeiro de 2023, foram realizadas novas medições e extração de óleo essencial com todas as plantas do experimento.

Para extração dos óleos essenciais foram coletados cerca de 100 gramas de folhas retiradas dos ramos coletados em campo, que foram levadas ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação em aparelho Clevenger por duas horas utilizando 100 gramas de folhas frescas em sessenta repetições, acompanhado de 1 litro de água destilada. Aproximadamente 50 gramas de folhas, em sessenta repetições, foram secas em estufa a 65°C até atingir peso constante para determinação de massa seca. O rendimento foi determinado pesando o óleo extraído e levando em consideração o teor de massa seca, sendo expresso em massa por massa (mg/g) e porcentagem (%).

Após a obtenção do óleo essencial, o mesmo foi levado para a centrífuga durante 2 min. a uma rotação de 100 rpm para realizar a separação da água destilada e do óleo. A aferição do volume do óleo essencial extraído de cada amostra foi determinada com o auxílio de micropipetas de precisão (0-100 µL), uma balança de precisão e o teor foi corrigido para base seca após obter a massa constante das amostras do material vegetal em estufas de ar forçado à 65 °C.

O óleo extraído foi armazenado em freezer a -20°C até o momento de análise. Para a identificação dos constituintes químicos do óleo essencial 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 a espectrômetro de massas (CG/EM) (Shimadzu 2010 Plus) (Kyoto, Japão) - do Departamento de Química da

UFPR. O injetor foi mantido a 250 °C. A separação dos constituintes foi obtida em coluna capilar HP-5MS (5%-fenil-95%-dimetilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) (Torrance, CA, USA) utilizando hélio como gás carreador (1,0 mL min⁻¹). A temperatura do forno foi programada para aumentar de 60 a 240 ° C a uma taxa de 3 °C min⁻¹. A identificação dos constituintes químicos foi obtida comparando seus espectros de massa com banco de dados e também seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de n-alcanos (C7 – C30) (VAN DEN DOOL E KRATZ, 1963) e comparados com dados da literatura (ADAMS, 2007). Para a quantificação dos compostos, utilizou-se um CG com detector DIC (ionização por chama) nas mesmas condições descritas acima, exceto pelo gás carreador, hidrogênio a 1,5 mL min⁻¹. A composição percentual foi obtida pela integração eletrônica do sinal DIC, dividindo a área de cada componente pela área total (%).

Para realizar a análise dos componentes majoritários do óleo essencial foi necessário homogeneizar o conjunto total de amostras (60 clones) em repetições compostas com 5 clones cada, assim foram utilizadas 12 amostras homogeneizadas para a injeção no cromatógrafo gasoso. As amostras homogeneizadas foram constituídas de clones com mesmas características (com ou sem ferimentos mecânicos), assim foram um total de 6 amostras homogeneizadas para as 30 amostras com o fermento mecânico e 6 amostras homogeneizadas para as 30 amostras de controle.

3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Aplicou-se a MANOVA para inferência acerca de médias para amostras pareadas com as variáveis morfológicas e fitoquímicas coletas (diâmetro do tronco [centímetros], teor de massa seca [%], peso da extração [mg], teor de óleo essencial [mg/g], teor de óleo essencial [%] e os componentes majoritários da composição química do óleo essencial [%]) ao nível de 5% de significância no software estatístico SPSS.

A análise de variância multivariada (MANOVA) é uma extensão da análise de variância (ANOVA) quando se possui mais do que uma variável dependente. Estas variáveis dependentes devem ser relacionadas em certa extensão, ou deve haver

alguma razão conceitual para considerá-las em conjunto. A MANOVA compara grupos e nos diz se as diferenças entre as médias dos grupos, para a combinação das variáveis independentes, ocorrem por chance. Para fazer isto, a MANOVA cria um novo conjunto de variáveis dependentes, que é uma combinação linear de cada uma das variáveis dependentes originais. Uma análise de variância é realizada usando esta nova combinação de variáveis dependentes. A MANOVA informa se existem diferenças significantes entre os grupos nesta variável dependente composta (HAIR JUNIOR *et al.*, 2005; ANDERSON, 2003; JOHNSON e WICHERN, 1998; KACHIGAN, 1991; MARRIOTT, 1974).

As médias foram comparadas no software SPSS pelo teste de médias para a avaliação dos efeitos do fermento mecânico e da variação sazonal. A seleção das variáveis foi necessária, sendo que o diâmetro do tronco principal foi tomada junto às variáveis da quantidade de óleo essencial na primeira análise (teor de massa seca [%], peso da extração [mg], teor de óleo essencial [mg/g], teor de óleo essencial [%]), pois possuem mesmo tamanho amostral. Enquanto na segunda análise foram selecionados os componentes principais avaliados do óleo essencial que são referentes aos compostos identificados e aos determinados pela ISO 4730/2007, totalizando 15 variáveis (uma para cada composto fitoquímico identificado).

Executou-se a análise de discriminantes para separar as variáveis morfométricas e fitoquímicas selecionadas para a primeira e segunda análises de variância multivariadas, a fim de discriminá-las estatisticamente em agrupamentos.

A análise discriminante é um procedimento utilizado para identificar as relações existentes entre variáveis nominais e variáveis preditoras quantitativas. Alternativamente, a análise discriminante pode ser considerada um procedimento para identificar os limites entre grupos de objetos, sendo os limites definidos em termos daquelas variáveis características que distinguem ou discriminam os objetos em seus respectivos grupos. O objetivo da análise discriminante é examinar o quanto é possível distinguir os membros de vários grupos com base nas observações feitas neles. Esta análise fornece testes de significância para detectar diferenças entre grupos baseada nos valores das variáveis selecionadas; regras de alocação, para identificar as amostras clonais como pertencentes a um dos grupos

com base nos valores das variáveis selecionadas, por meio de funções discriminantes; estima a probabilidade de alocação correta, usando as regras que foram derivadas (HAIR JUNIOR *et. al*, 2005; ANDERSON, 2003; JOHNSON e WICHERN, 1998; KACHINGAN, 1991; MARRIOTT, 1974). A análise discriminante tem por finalidade classificar um objeto em uma de $k \geq 2$ populações, com base em um vetor de observações multivariadas incógnito desse objeto (FERREIRA, 2018).

Os agrupamentos das variáveis selecionadas foram gerados no software para a avaliação dos efeitos do fermento mecânico e da variação sazonal. A 1ª análise de discriminantes foi aplicada ao diâmetro do tronco principal junto às variáveis da quantidade de óleo essencial da primeira MANOVA (teor de massa seca [%], peso da extração [mg], teor de óleo essencial [mg/g], teor de óleo essencial [%]), pois possuem mesmo tamanho amostral. A 2ª análise de discriminantes utilizou os componentes principais do óleo essencial da segunda MANOVA, totalizando 15 variáveis.

Antes da aplicação da MANOVA e da análise de discriminantes foi realizado o teste multivariado de homogeneidade das matrizes de variância-covariância, sendo identificado por meio do teste aplicado no SPSS que as variâncias são homogêneas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das MANOVA's (respectivamente TABELA 1 e 2) evidenciam a diferença entre médias das variáveis para as amostras pareadas, sendo que o efeito das estações climáticas foi significativo enquanto que o efeito dos ferimentos mecânicos não foi significativo.

TABELA 1 – RESULTADOS OBTIDOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA MULTIVARIADA PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS COM AS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS AS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.

Testes multivariados						
Efeito		Valor	F	gl de hipótese	Erro gl	Sig.
Ferimento Mecânico	Rastreio de Pillai	0,031	1,088	5	170	0,369
	Lambda de Wilks	0,969	1,088	5	170	0,369
	Rastreio de Hotelling	0,032	1,088	5	170	0,369
	Maior raiz de Roy	0,032	1,088	5	170	0,369
Época	Rastreio de Pillai	0,941	30,404	10	342	<0,0001
	Lambda de Wilks	0,279	30,388	10	340	<0,0001
	Rastreio de Hotelling	1,797	30,371	10	338	<0,0001
	Maior raiz de Roy	1,033	35,33	5	171	<0,0001
Ferimento Mecânico * Época	Rastreio de Pillai	0,023	0,391	10	342	0,951
	Lambda de Wilks	0,978	0,389	10	340	0,951
	Rastreio de Hotelling	0,023	0,387	10	338	0,952
	Maior raiz de Roy	0,018	0,62	5	171	0,684

FONTE: O autor (2023).

TABELA 2 – RESULTADOS OBTIDOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA MULTIVARIADA PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS COM AS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS AS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.

Testes multivariados						
Efeito		Valor	F	gl de hipótese	Erro gl	Sig.
Ferimento Mecânico	Rastreio de Pillai	0,299	0,455	15	16	0,933
	Lambda de Wilks	0,701	0,455	15	16	0,933
	Rastreio de Hotelling	0,426	0,455	15	16	0,933
	Maior raiz de Roy	0,426	0,455	15	16	0,933
Época	Rastreio de Pillai	1,833	12,479	30	34	<0,0001
	Lambda de Wilks	0,005	13,977	30	32	<0,0001
	Rastreio de Hotelling	31,123	15,562	30	30	<0,0001
	Maior raiz de Roy	24,243	27,476	15	17	<0,0001
Ferimento Mecânico * Época	Rastreio de Pillai	0,845	0,829	30	34	0,697
	Lambda de Wilks	0,293	0,904	30	32	0,609
	Rastreio de Hotelling	1,94	0,97	30	30	0,533
	Maior raiz de Roy	1,655	1,876	15	17	0,107

FONTE: O autor (2023).

As análises discriminantes (TABELA 3 e 4) para os dois conjuntos de dados utilizados nas MANOVA's mostraram que cerca de 100% de casos agrupados

originais foram classificados corretamente (GRÁFICO 2 e 3). Constatou-se maiores valores de correlações canônicas da análise de discriminantes com as variáveis dos componentes principais (TABELA 4) do que com as variáveis morfométricas e fitoquímicas (TABELA 3).

TABELA 3 – RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES A PORCENTAGEM DA VARIÂNCIA TOTAL EXPLICADA PELAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES OBTIDAS, RELATIVAS AOS AUTOVALORES ENCONTRADOS E COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO CANÔNICA PARA CADA UMA DAS FUNÇÕES.

Autovalores				
Função	Autovalor	% de variância	% cumulativa	Correlação canônica
1	1,025	57,4	57,4	0,711
2	0,76	42,6	100	0,657

FONTE: O autor (2023).

Os resultados indicam que, para todos os testes aplicados na TABELA 3, houve diferenças significativas entre as épocas avaliadas. Duas funções discriminantes foram determinadas, explicando 100% da variabilidade total, apresentando uma correlação entre as variáveis avaliadas e as funções discriminantes maiores do que 0,657.

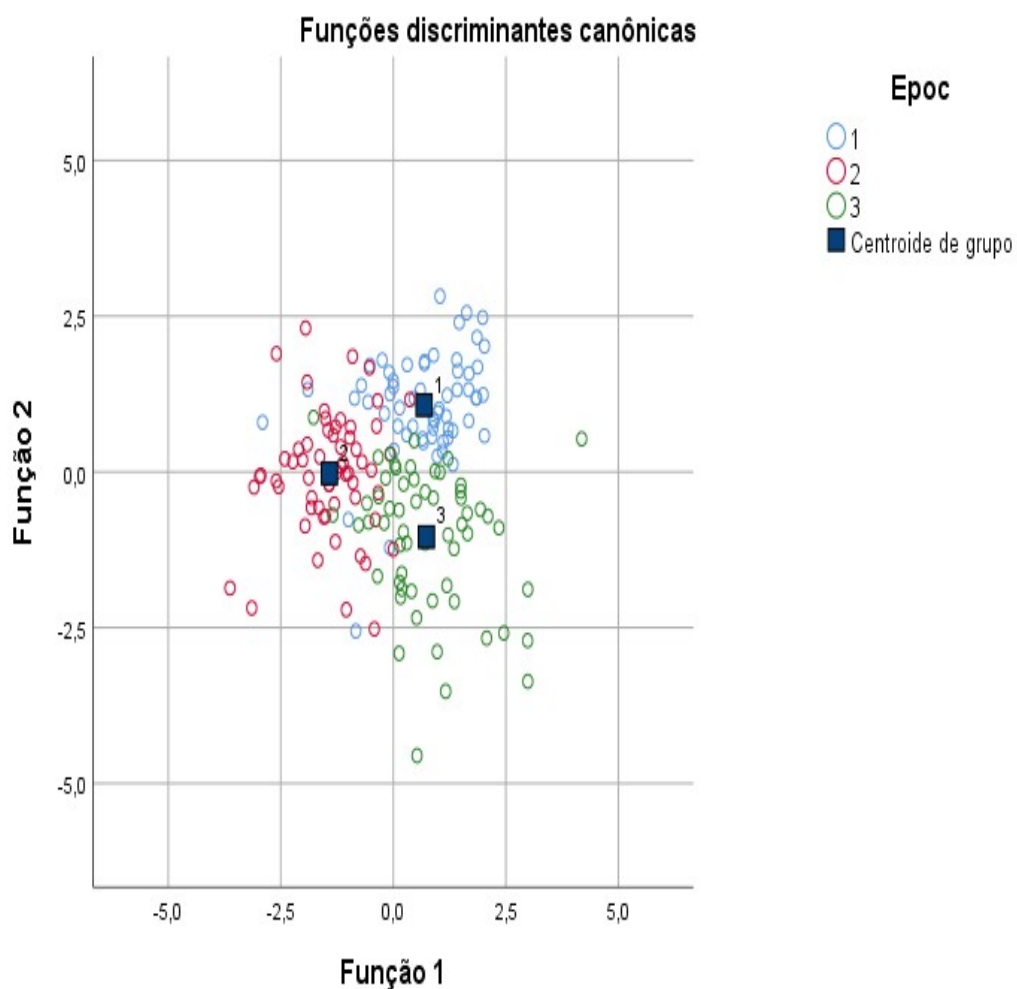
TABELA 4 – RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES A PORCENTAGEM DA VARIÂNCIA TOTAL EXPLICADA PELAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES OBTIDAS, RELATIVAS AOS AUTOVALORES ENCONTRADOS E COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO CANÔNICA PARA CADA UMA DAS FUNÇÕES.

Autovalores				
Função	Autovalor	% de variância	% cumulativa	Correlação canônica
1	18,764	78,4	78,4	0,974
2	5,159	21,6	100	0,915

FONTE: O autor (2023).

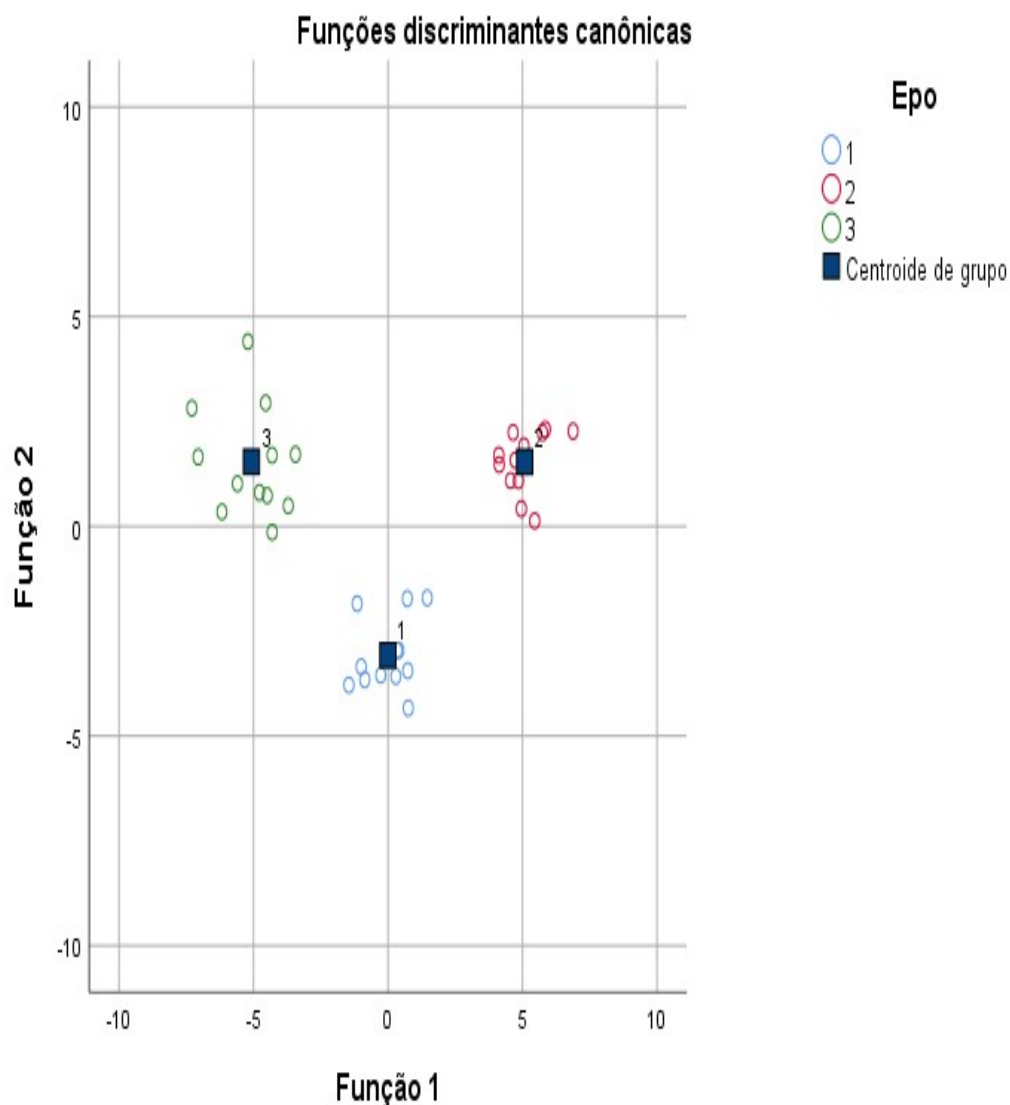
Os resultados indicam que, para todos os testes aplicados na TABELA 4, houve diferenças significativas entre as épocas avaliadas. Duas funções discriminantes foram determinadas, explicando 100% da variabilidade total, apresentando uma correlação entre as variáveis avaliadas e as funções discriminantes maiores do que 0,915.

GRÁFICO 2 – RESULTADOS DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES DO PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS COM OS RESPECTIVOS GRUPOS CENTRÓIDES PARA O CONJUNTO DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO EXPERIMENTO.



FONTE: O autor (2023).

GRÁFICO 3 – RESULTADOS DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES DO SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS COM OS RESPECTIVOS GRUPOS CENTRÓIDES PARA O CONJUNTO DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO AO LONGO DO EXPERIMENTO.



FONTE: O autor (2023).

A 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 utilizadas neste trabalho, não diferenciam-se nem devido às suas características genéticas.

Os resultados indicam que, para todos os testes aplicados na TABELA 5, houve diferenças significantes entre as épocas avaliadas. Duas funções discriminantes foram determinadas, apresentando significância com o Lambda de Wilks entre as variáveis avaliadas.

TABELA 5– RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AO LAMBDA DE WILKS, QUI-QUADRADO, DIFERENÇA E SIGNIFICÂNCIA DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.

Lambda de Wilks				
Teste de funções	Lambda de Wilks	Qui-quadrado	df	Sig.
1 até 2	0,281	222,329	10	<0,0001
2	0,568	98,885	4	<0,0001

FONTE: O autor (2023).

A primeira função discriminante apresentou a variável teor de óleo essencial, teor de óleo essencial em porcentagem (a de maior peso) e peso de óleo essencial como sendo a ela associada (correlação canônica), enquanto que para a segunda função discriminante as associadas foram a massa seca em porcentagem (a de maior peso) e diâmetro (TABELA 6).

TABELA 6 – RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AOS PESOS (CORRELAÇÕES CANÔNICAS) ENTRE AS VARIÁVEIS ORIGINAIS SELECIONADAS E AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.

Matriz de estruturas		
	Função	
	1	2
Teor (%)	,931*	-0,335
Teor (mg/g)	,792*	-0,378
Peso (mg)	,589*	-0,586
MS (%)	-0,113	-,344*
DC (cm)	-0,036	-,329*

FONTE: O autor (2023).

Os resultados indicam que, para todos os testes aplicados na TABELA 7, houve diferenças significantes entre as épocas avaliadas. Duas funções discriminantes foram determinadas, apresentando significância com o Lambda de Wilks entre as variáveis avaliadas.

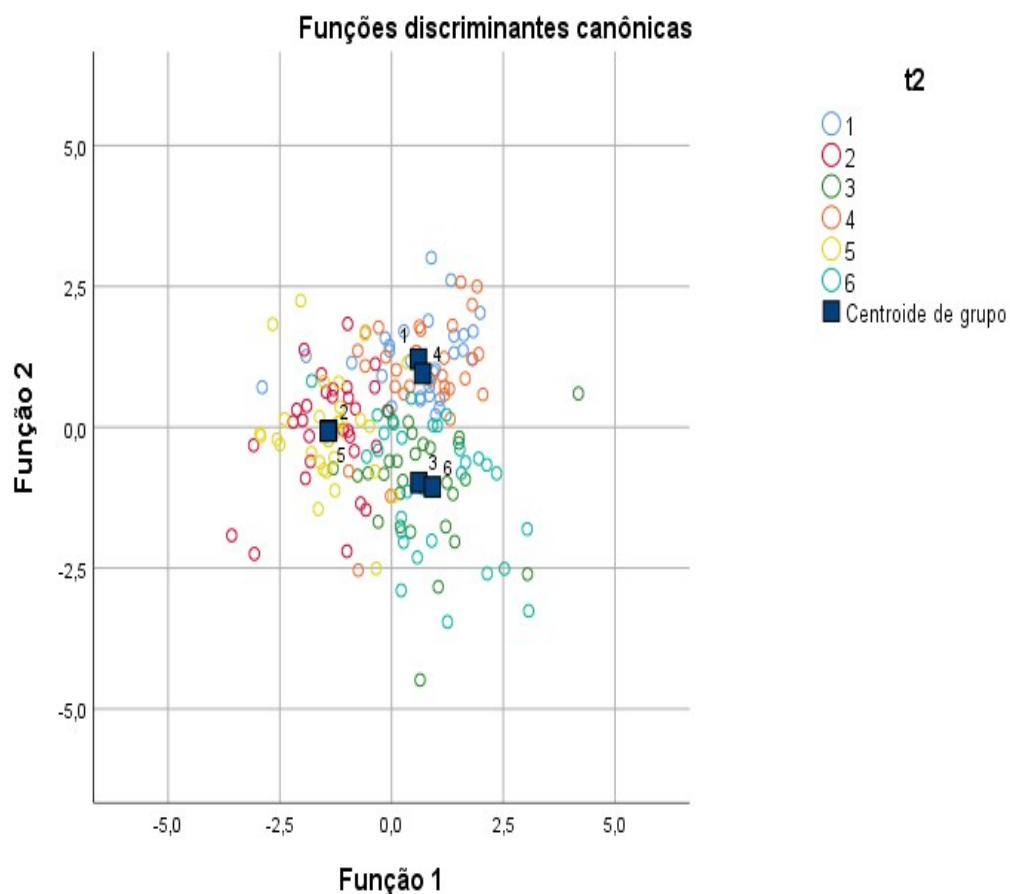
TABELA 7 – RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AO LAMBDA DE WILKS, QUI-QUADRADO, DIFERENÇA E SIGNIFICÂNCIA DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.

Lambda de Wilks				
Teste de funções	Lambda de Wilks	Qui-quadrado	df	Sig.
1 até 2	0,008	124,845	30	<0,0001
2	0,162	47,264	14	<0,0001

FONTE: O autor (2023).

Quando não se aplicou a diferenciação entre as épocas e ferimentos mecânicos do estudo, os resultados indicam a separação estatística das épocas, mas não dos ferimentos mecânicos para o conjunto amostral total (GRÁFICO 4). Assim confirmando que houve diferenças significantes entre as épocas avaliadas.

GRÁFICO 4 – RESULTADOS DAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES DO PRIMEIRO CONJUNTO DE DADOS COM OS RESPECTIVOS GRUPOS CENTRÓIDES PARA O CONJUNTO DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS EM TODAS AS ÉPOCAS DE EXTRAÇÃO DESCONSIDERANDO A DIFERENCIAÇÃO ESTATÍSTICA EM RELAÇÃO AOS FERIMENTOS MECÂNCIOS E ÉPOCAS AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO.



FONTE: O autor (2023).

A primeira função discriminante apresentou as variáveis X1, X2, X3, X4, X5, X6 (p-cimeno, a de maior peso), X7 e X14 a ela associada (correlação canônica), enquanto que para a segunda função discriminante as variáveis X8, X9, X10, X11 (de maior peso foi o terpinen-4-ol), X12, X13 e X15 (TABELA 8), sendo que cada variável corresponde a um composto do óleo essencial. Evidenciou-se que o conjunto dos compostos separados na segunda função (X8, X9, X10, X11, X12, X13 e X15, respectivamente identificados como 1,8-cineol, γ -terpineno, terpinoleno, terpinen-4-ol, α -terpineol, aromadendreno e δ -cadineno) são similares ao conjunto dos componentes majoritários de interesse descritos na ISO 4730/2007. Assim as funções discriminantes serviram para separar a maior parte dos compostos

fitoquímicos de interesse na segunda função, enquanto na primeira função separou os compostos de menor interesse.

TABELA 8 – RESULTADOS OBTIDOS DOS TESTES MULTIVARIADOS PARA O SEGUNDO CONJUNTO DE DADOS REFERENTES AOS PESOS (CORRELAÇÕES CANÔNICAS) ENTRE AS VARIÁVEIS ORIGINAIS SELECIONADAS E AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES.

Matriz de estruturas		
	Função	
	1	2
x6	,452*	0,091
x14	-,431*	0,304
x4	-,225*	-0,1
x1	-,215*	-0,053
x5	-,182*	0,038
x2	,119*	0,081
x3	-,078*	0,013
x7	-,065*	0,05
x11	0,071	-,264*
x15	-0,125	,245*
x10	-0,167	,212*
x9	0,179	,209*
x13	-0,126	,187*
x8	0,078	-,175*
x12	0,054	-,135*

FONTE: O autor (2023).

A significância entre as épocas e ferimentos mecânicos do estudo (TABELAS 9, 10, 11, 12 e 13), indicam a separação estatística dos efeitos dos ferimentos mecânicos para o conjunto amostral total. Assim confirmando que houve diferenças significantes apenas entre as épocas avaliadas.

TABELA 9 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS DIÂMETRO, TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL, α -TUJENO E α -PINENO DAS AMOSTRAS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.

Significância	Diâmetro	Teor de OE	α -tujeno	α -pineno
Injúria Mecânica	ns	ns	ns	ns
Época	*	*	*	ns
Injúria Mecânica x Época	ns	ns	ns	ns

FONTE: O autor (2023).

TABELA 10 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS MIRCENO, α -FELANDRENO, α -TERPINENO E ρ -CIMENO DAS AMOSTRAS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.

Significância	mirceno	α -felandreno	α -terpineno	ρ -cimeno
Injúria Mecânica	ns	ns	ns	ns
Época	ns	*	*	*
ns	ns	ns	ns	ns

FONTE: O autor (2023).

TABELA 11 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS LIMONENO, 1.8-CINEOL, γ -TERPINENO E TERPINOLENO DAS AMOSTRAS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.

Significância	limoneno	1.8-cineol	γ -terpineno	terpinoleno
Injúria Mecânica	ns	ns	ns	ns
Época	ns	ns	*	*
Injúria Mecânica x Época	ns	ns	ns	ns

FONTE: O autor (2023).

TABELA 12 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS TERPINEN-4-OL, α -TERPINEOL E AROMADENDRENO DAS AMOSTRAS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.

Significância	terpinen-4-ol	α -terpineol	aromadendreno
Injúria Mecânica	ns	ns	ns
Época	*	ns	*
Injúria Mecânica x Época	ns	ns	ns

FONTE: O autor (2023).

TABELA 13 – RESULTADOS DE SIGNIFICÂNCIA (*) RELACIONADA ÀS VARIÁVEIS BICICLOGERMACRENO e δ -CADINENO DAS AMOSTRAS A PARTIR DOS TESTES MULTIVARIADOS COM AS FUNÇÕES DISCRIMINANTES PARA TODO O CONJUNTO DE DADOS.

Significância	biciclogermacreno	δ -cadineno
Injúria Mecânica	ns	ns
Época	*	*
Injúria Mecânica x Época	ns	ns

FONTE: O autor (2023).

Todas as amostras clonais de *Melaleuca alternifolia* Cheel estudadas apresentaram óleo essencial na extração por arraste a vapor, sendo que o teor variou de 1,90 a 4,72%, com média igual a 3,13%. Teores acima de 3,13% de óleo essencial foram obtidos na primeira (outono) e terceira (verão) extração em todos os clones, enquanto na segunda (primavera) ocorreu a menor produção. As plantas de *M. alternifolia* cultivadas na Austrália contém teores de óleo em torno de 1 a 3% em relação à massa fresca (BEYLIER, 1979).

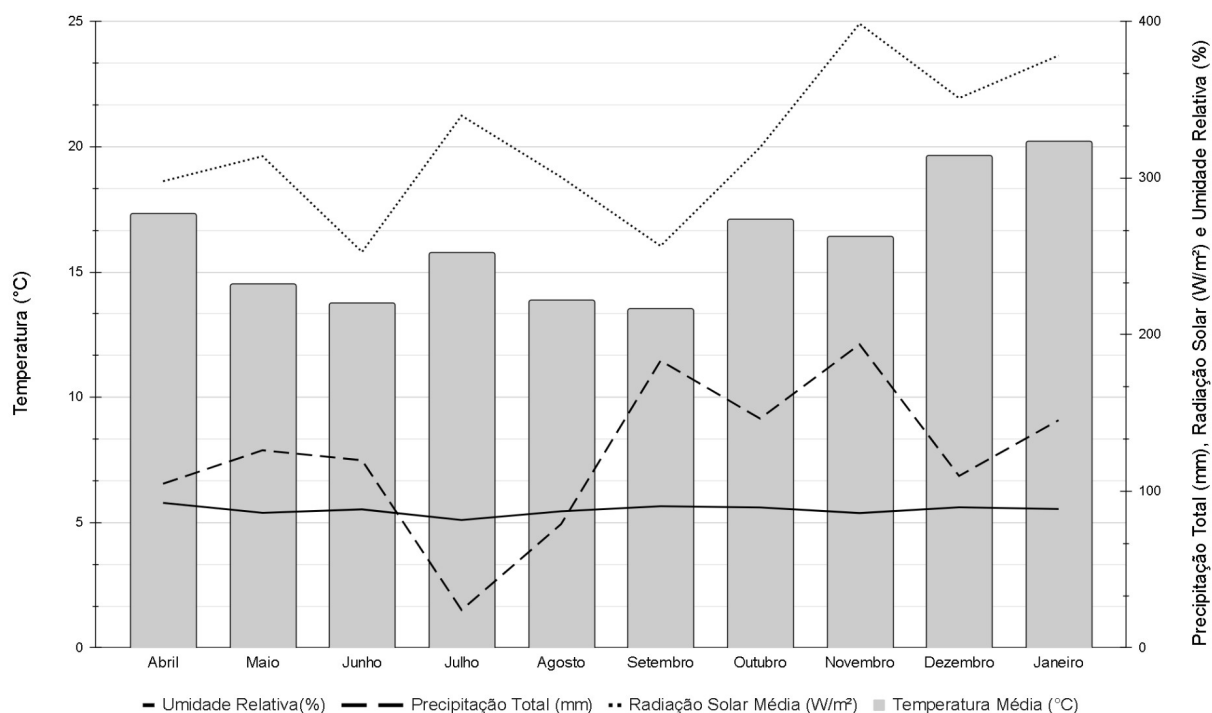
Os óleos essenciais das folhas frescas de *M. alternifolia* nas estações de outono, primavera e verão renderam médias, respectivamente, 3,25%, 2,61% e 3,55%. Os resultados obtidos corroboram com outros trabalhos realizados de avaliação da influência da sazonalidade no teor de óleos essenciais. Segundo Silva *et al.* (2003), os teores de óleo essencial encontrados nas plantas em Viçosa – MG, nas três épocas de processamento, variaram de 1,09 a 1,37% em relação à massa fresca.

Os teores de óleo essencial dos clones tratados nas estações de outono, primavera e verão renderam médias, respectivamente, 3,22%, 2,61% e 3,49%. Enquanto o dos clones não tratados renderam, respectivamente, 3,28%, 2,60% e 3,61%. Assim constatando a ausência de efeito com injúria mecânica sobre as plantas.

Os maiores teores de óleo foram observados nas amostras coletadas em janeiro de 2023 e os menores teores de óleo foram observados nas coletas em setembro de 2022. Isto pode estar relacionado à maior média de radiação solar sobre as folhas no verão (GRÁFICO 1), que contribui com aumento da taxa fotossintética e estimula as todas as rotas metabólicas. Enquanto os valores inferiores no outono podem estar relacionados a maior precipitação média que diminui o teor de óleo essencial no momento da coleta.

Os dados de temperatura, precipitação, radiação solar e umidade relativa (GRÁFICO 1) mostram que: as coletas realizadas em janeiro de 2023 apresentaram os maiores valores para a temperatura média e radiação solar; as coletas em abril de 2022 ocorreram no mês com maior umidade relativa média; e a colheita em setembro de 2022 aconteceram no mês com maior precipitação total.

GRÁFICO 1 – TOTAL DE PRECIPITAÇÃO (mm), TEMPERATURA MÉDIA (°C), RADIAÇÃO SOLAR MÉDIA (°C) E UMIDADE RELATIVA MÉDIA (%) AO LONGO DO PERÍODO DE ESTUDO NO AMBIENTE DE COLETA.



FONTE: SIMEPAR (2023).

Tais resultados corroboram com outros trabalhos realizados de avaliação da influência da sazonalidade no teor de óleos essenciais. Segundo Silva (2007), o maior teor de óleo encontrado nas folhas das espécies *M. alternifolia* e *M. armillaris*, provavelmente se deve ao fato deste órgão estar exposto à maior incidência de radiação solar. Ainda, segundo SILVA *et al.* (2003), houve variação no teor de óleo, acentuando-se nos meses de junho e outubro. As amostras coletadas nos meses de julho e setembro apresentaram os menores teores de óleo. A tendência de decréscimo no teor de óleo nos meses de julho a setembro pode estar relacionada às menores temperaturas deste período ou à época de floração da espécie.

Os resultados mostram que os teores de óleo essencial em relação à massa seca, obtido das plantas clonais em Pinhais – Paraná, estão dentro dos valores encontrados nas plantas australianas e brasileiras em pesquisas anteriores.

Um total de 15 dos 36 compostos presentes no óleo essencial (TABELAS 14, 15, 16 e 17) foram identificados nas três estações, representando 91,53% no óleo obtido no outono, 91,71% na primavera e 89,92% no verão. A maior parte do

óleo essencial foi caracterizado atendendo os critérios de constituintes majoritários presentes na ISO 4730/2007 (ISO, 2017) (TABELA 18). Os principais componentes e suas concentrações médias encontradas no óleo essencial coletado nas três épocas estão apresentados nas TABELAS 14, 15, 16 e 17.

TABELA 14 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.

Época	α -tujeno	α -pineno	mirceno	α -felandreno
1	0,50	1,93	0,74	0,22
2	0,45	2,04	0,73	0,20
3	0,54	1,91	0,75	0,23

FONTE: O autor (2023).

TABELA 15 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.

Época	α -terpineno	p-cimeno	limoneno	1.8-cineol
1	9,25	2,07	1,20	1,81
2	9,00	2,73	1,20	1,74
3	9,61	1,62	1,22	1,62

FONTE: O autor (2023).

TABELA 16 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.

Época	γ -terpineno	terpinoleno	terpinen-4-ol	α -terpineol
1	19,89	3,21	46,12	3,54
2	20,83	3,22	45,02	3,52
3	19,91	3,36	44,10	3,48

FONTE: O autor (2023).

TABELA 17 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA CROMATOGRAFIA GASOSA E SUA CONCENTRAÇÃO MÉDIA EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.

Época	aromadendreno	biciclogermacreno	δ -cadineno
1	0,27	0,34	0,45
2	0,28	0,27	0,49
3	0,34	0,64	0,59

FONTE: O autor (2023).

TABELA 18 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DETERMINADOS NA NORMA REGULAMENTADORA INTERNACIONAL ISO 4730 DE 2007.

ISO 4730/2007	
Composição do Óleo Essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel	
terpinen-4-ol	≥30%
γ-terpineno	10% a 28%
α-terpineno	5% a 13%
1,8-cineol	≤ 15%
terpinoleno	1.5% a 5%
p-cimeno	0.5% a 12%
α-pineno	1% a 6%
α-terpineol	1,5% a 8%
limoneno	0.5% a 4%

FONTE: O autor (2023).

A identificação dos compostos principais do óleo essencial dos clones tratados nas estações de outono, primavera e verão representaram, respectivamente, 91,29%, 91,82% e 90,09%. Enquanto a dos clones não tratados representaram, respectivamente, 91,78%, 91,60% e 89,75%. Assim constatando a ausência de efeito dos ferimentos mecânicos sobre a composição fitoquímica dos clones.

Os resultados obtidos corroboram com outros trabalhos realizados de avaliação da influência da sazonalidade na composição de óleos essenciais. Segundo Silva *et al.* (2003), concluiu-se que não houve influência do mês de coleta sobre a concentração dos principais componentes do óleo; resultado semelhante foi observado por Murtagh e Smith (1996).

De acordo com Homer *et al.*, 2000, a composição química do óleo essencial de *M. alternifolia* é mais afetada por fatores genéticos que por fatores ambientais. Penfold *et al.* (1948), observaram que espécies que ocorrem em regiões com condições ambientais semelhantes podem apresentar composições de óleos essenciais diferenciadas. Isto pode indicar que a composição do óleo essencial pode ser considerada como sendo produto muito mais do controle genético que das condições ambientais. Shelton *et al.* (2004), porém sugerem maior influência das condições ambientais sobre a composição do óleo essencial dos diversos quimiotipos de *M. alternifolia*.

A partir das análises estatísticas, foi observada a mudança na produção e desenvolvimento dos clones entre os períodos de coleta em abril (outono), setembro (primavera) e janeiro (verão) devido à sazonalidade da vegetação sendo constatado que os materiais coletados com o intuito de extração de óleo essencial não obtiveram os rendimentos e composição da primeira extração nas extrações seguintes.

Foi observado variação dos rendimentos das extrações. Este fato está relacionado às variáveis climáticas, pois as coletas ocorreram em estações climáticas diferentes, assim afetando diretamente as rotas metabólicas vegetais. Recomenda-se a colheita no verão pois foi a época que apresentou os maiores valores para todas as variáveis de primeiro conjunto (TABELA 19) e para 9 variáveis do segundo conjunto (TABELAS 14, 15, 16 e 17).

TABELA 19 – RESULTADOS DAS MÉDIAS DE TODAS AS VARIÁVEIS DO PRIMEIRO CONJUNTO EM CADA ÉPOCA DE EXTRAÇÃO.

Época	Diâmetro	Massa Seca	Peso	TOE	TOEP
1	26,02	45,76	1503,22	32,47	3,25
2	29,2	48,91	1349,5	26,05	2,61
3	31,07	49,46	1831,83	35,52	3,55

FONTE: O autor (2023).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos do experimento realizado com o desenvolvimento do clone de *Melaleuca alternifolia* Cheel e na produção de óleo essencial indicam que houve diferença estatisticamente significativa quanto às épocas, mas não quanto aos ferimentos mecânicos. Salienta, que o ferimento mecânico apresentou-se de fácil aplicação, ainda que sem efeito significativo sobre a melaleuca e seu óleo essencial no período do experimento.

As variações observadas entre as épocas no desenvolvimento do clone e no seu teor de óleo essencial e composição foram relacionados estatisticamente à influência dos fatores sazonais observados. Recomenda-se a continuação do experimento por um período maior para averiguação dos efeitos do ferimento mecânico sem interferência das épocas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry**. 2007. Carol Stream: Allured Publishing Corporation.

AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, p. 158–170, 2003.

ANDERSON, T. W. **An introduction to multivariate statistical analysis**. 3th ed. New York: J. Wiley, p. 752, 2003.

ATTIA. **Literature database**. 2023. Disponível em: <<https://teatree.org.au/research.php>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

BARCELOUX, D. G. **Medical toxicology of natural substances: foods, fungi, medicinal herbs, plants and venomous animals**. New Jersey: Wiley, p. 1157, 2008.

BARRADAS, M.I. **Melaleuca alternifolia: evidência científica**. 2020. Disponível em: <<https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/97835/1/Melaleuca%20alternifolia.pdf>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

BEYLIER, M.F. Bacteriostatic activity of some Australian essential oils. **Perfumes and Flavourist**, v.4, p. 23-25, 1989.

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

BUENO, C.C. **Perfil da exportação e importação de óleos essenciais no Brasil, entre os anos de 2020 e 2021, e a predominância do óleo essencial de Melaleuca alternifolia no Paraná**. 2021. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/355544213_Perfil_da_exportacao_e_importacao_de_oleos_essenciais_no_Brasil_entre_os_anos_de_2020_e_2021_e_a_predominancia_do_oleo_essencial_de_Melaleuca_alternifolia_no_Parana>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W., JONES, R. (Ed.) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville, Maryland, **American Society of Plant Physiologists**, 2000. cap. 21, p. 1102-1157.

BRANT, R.S. *et al.* Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, v. 39, n.5, p.1401-1407, 2009.

CARSON, C.F.; MEE, B.J.; RILEY, T.V. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.46, n.6, p.1914-20, 2002.

CASTELLANI, D. C., *et al.* Produção de óleo essencial em catuaba (Trichilia catigua A. Juss) e negramina (Siparuna guianensis Aubl.) em função da época de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, n.4, p.62-65, 2006. Disponível em:<https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMedicinais/artigo12_v8_n4_p062-065.pdf>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

CASTELO, A. V. M.; A, S. R.; MELO, R. R.; DEL MENEZZI, C. H. S.; Camillo, J.; VIEIRA, R. F.; Rendimento e composição química do óleo essencial de Melaleuca alternifolia Chell, na região do Distrito Federal. Agrária – **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 2013, 8, 143.

CASTELO, A. V. M., *et al.* Rendimento e análises espectroscópicas (RMH 1 H, 13C; IV) da composição química dos óleos essenciais de quatro plantas do Cerrado. **Cerne**, v.16, n.4, p.573-589. 2010. Disponível em:<<https://www.scielo.br/j/cerne/a/Gg5kkKhWC6zxYWnSNNV7Fpp/?lang=pt>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

CASTRO, C.; SILVA, M. L.; PINHEIRO, A. L.; JACOVINE, L. A. G.; Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de Melaleuca alternifolia Cheel. **Revista Árvore** 2005, 29, 241.

CHEONG, Y. H., CHANG, H. S., GUPTA, R., WANG, X., ZHU, T., LUAN, S. (2002). Transcriptional profiling reveals novel interactions between wounding, pathogen, abiotic stress, and hormonal responses in Arabidopsis. **Plant Physiol** 129: p. 661-677. doi: 10.1104/pp. 002857.

COLSON, E., DEVERALL, B. Helping Plants Fight their Own Disease Battles. **Australian Cotton Grower**, 17: 76-80, 1996.

COLTON, R. T.; MUSTAGH, G. H. **Cultivation of Tea Tree**. In: SOUTHWELL, I.; LOWE, R. *Tea Tree: The genus melaleuca*. Amsterdam: Harwood academic publishers, 2005. p. 63-80.

CORRÊA JÚNIOR, C. MING, L. C., SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Edição 2, Jaboticabal. FUNEP, 1994, pág. 162.

CRONQUIST A. 1981. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. Columbia University: New York.

DAKORA, F. D.; MATIRU, V.; KANU, A. S. Rhizosphere ecology of lumichrome and riboflavin, two bacterial signal molecules eliciting developmental changes in plants. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 700, 2015.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, M. C.; ROSWALKA, L. C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de menta. **Ciência e Agrotecnologia**, vol.32, n.3, p. 725-730, 2008.

DORAN, J. C.; TURNBULL, J. W. **Australian trees and shrubs: species for land rehabilitation and farm planting in the tropics**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1997.

EMERGEN RESEARCH. **Tea Tree Oil Market Size, Share, Trends, By Application (Cosmetic and Toiletries Application, Therapeutic Application, Industrial Application), By Grade (Pharma/Cosmetic Grade and Therapeutic Grade), By End-use, and By Region Forecast to 2030**. 2023. Disponível em: <<https://www.emergenresearch.com/industry-report/tea-tree-oil-market>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

FERREIRA, D. F. **Estatística Multivariada**. 3. Ed. Lavras: UFLA, p. 624, 2018.

GALDINO, A. P. P., *et al.* Estudo sobre o rendimento e qualidade do óleo de candeia (*Eremanthus ssp*) e a influência das diferentes origens comerciais da sua madeira. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8. n. 4. p.44-46, 2006. Disponível em: <https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RivistaBrasileiradePlantasMedicinais/artigo9_v8_n4_p044-046.pdf>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

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.

GREAY S. J. *et al.* Inhibition of established subcutaneous murine tumour growth with topical *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Cancer Chemother Pharmacol.** 2010 Nov;66(6): p. 1095-102. doi: 10.1007/s00280-010-1267-3. Epub 2010 Feb 21. PMID: 20577741.

GROOT, A. C., SCHMIDT, E. (2016). **Tea tree oil: contact allergy and chemical composition.** Contact dermatitis, 75(3), p. 129-143. 10.1111/cod.12591.

GUZZO, S. D. **Aspectos Bioquímicos e Moleculares da Resistência Sistêmica Adquirida em cafeeiro contra Hemileia vastarix.** Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP-Piracicaba, 2004.

HAIR JUNIOR, J.F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados.** 5. Ed. Porto Alegre: Bookman, p. 593, 2005.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY T. V.; Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 2004, 53, 1081.

HANSON, J.B. and A.J. TREWAVAS. Regulation of plant cell growth: the changing perspective. **New Phytologist**, 90: p. 8, 1982.

HOMER, L. E. *et al.* Natural variation in the essential oil content of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n.4, p. 367-382, 2000.

HOU, T. Z., LI, M. D. **Experimental evidence of a plant meridian system: IV. The effects of acupuncture on growth and metabolism of Phaseolus vulgaris L. beans.** Am J Chin Med. 1997;25(2):135-42. doi: 10.1142/S0192415X97000159. PMID: 9288359. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9288359/>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

IAT. **Mapa clima do estado do Paraná.** 2008. Disponível em: <https://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-terra/arquivos_restritos/files/documento/2020-07/mapa_climas_a3.pdf>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

IMARC GROUP. **Tea Tree Oil Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2022-2027.** 2023. Disponível em:

<<https://www.imarcgroup.com/tea-tree-oil-market>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

ISO. ISO 4730:2017 – **Essential oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil)**. 2013. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/69082.html>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

ISO. ISO 9235:2013 – **Aromatic natural raw materials**. 2013. Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:en>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, p. 816, 1998.

JONES, J. D. G., DANGL, J. L. The plant immune system. *Nature*, 444, 2006. Karas, M., Hillenkamp, F. Laser desorption ionization of proteins with molecular mass exceeding 10 000 Daltons. **Analytical Chemistry**, 60: p. 2299-3001, 1988.

KACHIGAN, S. K. Multivariate statistical analysis. 2nd ed. New York: **Radius Press**, p. 303, 1991.

LÁSZLO, F. **Curso Aromatologia**. Módulo I. 2008. Disponível em: <<http://laszlo.ind.br/default.asp?pagina=artigo>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

LEÓN, J., ROJO, E., SÁNCHEZ-SERRANO, J. J. Wound signalling in plants. **Journal of Experimental Botany**, 52: 1-9, 2001.

LUIZ, C. **Nanoemulsões de aloe vera e óleos essenciais de Melaleuca alternifolia E Cymbopogon martinii como indutores de resistência contra a mancha angular do morangueiro (Xanthomonas fragarie)**. 2017. 97 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

MAPELI, N. C., *et al.* Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Revista de Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p.32-37, 2005. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/hb/a/ZGtRTC9YxHSzkrJLFSJ88jP/?lang=pt>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

MARIA HELENA *et al.* Óleos essenciais terapêuticos de *Melaleuca* L. (Myrtaceae). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, Vol. 8(1): p. 1-72, Janeiro a Março de 2013.

MAROTTI, M.; PICCAGLIA, R.; GIOVANELLI, E.; DEANS, S. G.; EAGLESHAM, E. Effects of planting time and mineral fertilization on peppermint (*Mentha x piperita* L.) essential oil composition and its biological activity. **Journal of Flavour and Fragrance**, Glasgow, v. 9, n. 3, p. 125-129, 1994.

MARRIOTT, J. H. C. The interpretation of multiple observations. **London: Academic Press**, p. 117, 1974.

MATIAS, E. F. F., *et al.* Variação sazonal, composição química e atividade biológica do óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) e sabinense. **Culturas e produtos industriais**, v.87, p.45–53, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669016302400?via%3Dihub>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

MIRANDA, L., CARMO, M. S. **Recursos florestais no assentamento 12 de outubro** (Horto Vergel), Mogi-Mirim, SP. *Revista Árvore*, v. 33, p. 1085-1093, 2009.

MIRANDA, S. H. S. **Desenvolvimento do método de extração em solução hexânica e identificação dos compostos do óleo de *Melaleuca alternifolia***. UFP, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/618/1/SHSM22072014.pdf>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

MONTEIRO, M. H. D. A. *et al.* Óleos essenciais terapêuticos obtidos de espécies de *Melaleuca* L. (Myrtaceae Juss.). **Revista Fitos**, v. 8, n. 1, p. 19-32, 2013.

NEPOMOCENO e PIETROBON. **Melaleuca alternifolia: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA BRASILEIRA**. 2020. Disponível em: <<https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/3409/2207>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

OLIVEIRA *et al.* **Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal**. 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpm/a/3HdchzssGnG9h8JV8pwjZym/?lang=pt>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

OLIVEIRA, M. C. A. Extração e Caracterização dos Constituintes Voláteis do Óleo Essencial do Capim-Citronela (*Cymbopogon* Sp) da cidade de Araguaína por arraste a vapor e Gc/Ms. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – **Universidade Federal do Tocantins**, Araguaína, 2021. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11612/4746>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

PARKI, A., *et al.* Variação sazonal na composição do óleo essencial e propriedades antioxidantes de *Acorus calamus* L. **Medicines**, v.4, n.81, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5750605/>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

PENFOLD A. R., MORRISON F. R., MCKERN H. H. G. 1948. Studies in the physiological forms of the Myrtaceae. Part II: The occurrence of physiological forms in *Melaleuca alternifolia* Cheel. In: Researches on Essential Oils of the Australian Flora. Vol. I, Part II. Sydney: **Museum of Technology and Applied Science**, p. 18-19.

PICKARD, B.G. Voltage transients elicited by sudden step-up of auxin. **Plant, Cell and Environment**, 7: o. 171-178, 1984.

PLANT HEALTH AUSTRALIA. **Tea tree**. 2023. Disponível em: <<https://www.planthealthaustralia.com.au/industries/tea-tree/>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

POURMORTAZAVI, S. M. & HARJIMIRSADEGHI, S. S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. **Journal of chromatography A** 1166: p. 2-24.

PRINSLOO, G., NOGEMANE, N. Os efeitos da estação e da disponibilidade de água na composição química, metabólitos secundários e atividade biológica nas plantas. **Phytochemistry Reviews**, 17:889–902, 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-018-9567-z>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant signaling & behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720–31, nov. 2011.

RUSSELL, M. F., SOUTHWELL, I, A. 2002. Monoterpenoid accumulation in *Melaleuca alternifolia* seedlings. **Phytochemistry** 59: p. 709-716.

SALES, J.F. *et al.* Acúmulo de massa, teor foliar de nutrientes e rendimento de óleo essencial de hortelã-do-campo (*Hyptis marrubiioides* Epl.) cultivado sob adubação orgânica. **Bioscience Journal**, v.25, n.1, p.60-68, 2009.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v.34, p.3-21, 2001.

SANTOS *et al.* **Potencial Energético da Biomassa Residual do Processo de Extração do Óleo de Melaleuca**. 2021. Disponível em: <<http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v14n1a18.pdf>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

SHELTON, D., ZABARAS, D., CHOHAN, S., WYLLIE, S. G., BAVERSTOC, P., LEACH, D., HENRY, R. 2004. Isolation and Partial Characterization of a Putative Monoterpene Synthase from *Melaleuca alternifolia* (Cheel). **Plant Physiology e Biochemistry** 42: p. 875-882.

SILVA, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de Plantas contra o Ataque de Fitopatógenos. **EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia, Seropédica**, RJ, Documentos, n. 250, 2008. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/630318/1/doc250.pdf>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

SILVA, C. S. **Morfoanatomia foliar e composição química dos óleos essenciais de sete espécies de *Melaleuca* L. (Myrtaceae)**. 2007. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/2567/1/texto%20completo.pdf>>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

SILVA, S. R. S. Composição química, avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial e deficiência hídrica de *Melaleuca alternifolia* Cheell crescida no Brasil. Viçosa: **Universidade Federal de Viçosa**, 2001. 60p. Dissertação Mestrado.

SILVA, S. R. S. *et al.* **Efeito do Estresse Hídrico Sobre Características de Crescimento e a Produção de Óleo Essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel**. *Acta Scientiarum*, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

SILVA *et al.* **Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell**. 2003. Disponível em: <<https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM->

RevistaBrasileiradePlantasMedicinais/artigo12_v6_n1.pdf>. Acesso em: 29 de janeiro de 2023.

STICHER, L., MAUCHI MANI, B., METRAUX, J. P. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, 35: p. 235-270, 1997.

TUZUN, S. The Relationship Between Pathogen – Induced Systemic Resistance (ISR) and Multigenic (horizontal) Resistance in Plants. **European Journal of Plant Pathology**, 107: p. 85-93, 2001.

VALLAD, G.E., GOODMAN, R.M. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. **Crop Science Society of America**, 44: p. 1920-1934, 2004.

VAN DEN DOOL, H., KRATZ, P.D., 1963. **A generalisation of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid chromatography.** **J. Chromatogr.** 11, p. 463 – 471. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80947-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X).

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.

VOROBIEV, L.N., MANUSADZIANAS, L. Bioelectrical reactions of Nitellopsis Obtusa induced by indole-3-acetic acid. **Physiologia Plantarum**, 59: p. 651-658, 1983.

ZHAO, J., DAVIS, L. C., VERPOORTE R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances** 23: p. 283-333.

ZORATTI, L. *et al.* Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. October, p. 1–16, 2014.

APÊNDICE 1 – TABELAS DE DADOS

AMOSTRA	MFE 1 (g)	MFE 2 (g)	MFE 3 (g)	MFP 1 (g)	MFP 2 (g)	MFP 3 (g)	MSP 1 (g)	MSP 2 (g)	MSP 3 (g)	CC 1 (cm)	CC 2 (cm)	CC 3 (cm)	DC 1 (cm)	DC 2 (cm)	DC 3 (cm)
1	100,28	102,80	105,78	50,86	53,68	54,38	23,52	23,37	25,77	100	101	111	31,83	32,15	35,33
2	100,03	103,28	103,43	50,71	55,74	54,86	25,03	22,74	22,88	99	107	113	31,51	34,06	35,97
3	100,11	105,69	104,42	50,54	52,71	52,44	22,91	20,20	21,64	85	92	97	27,06	29,28	30,88
4	100,19	103,06	103,64	50,41	54,49	52,44	23,74	24,78	26,48	106	120	123	33,74	38,2	39,15
5	100,49	106,42	105,07	50,18	53,97	54,41	24,20	22,84	23,95	93	112	118	29,6	35,65	37,56
6	100,73	103,62	103,78	50,42	55,13	53,76	23,35	21,77	25,52	79	84	87	25,15	26,74	27,69
7	100,80	104,82	105,14	50,21	56,94	53,85	23,90	22,11	23,31	74	91	95	23,55	28,97	30,24
8	100,45	105,21	104,12	50,67	53,28	52,30	23,68	21,61	23,90	66	75	79	21,01	23,87	25,15
9	100,62	103,26	105,79	50,47	54,83	52,66	25,25	21,47	23,92	96	115	120	30,56	36,61	38,2
10	100,37	105,58	105,80	50,62	53,93	54,29	24,75	21,75	25,06	83	94	100	26,42	29,92	31,83
11	100,95	104,43	105,72	50,47	53,36	53,14	25,42	20,26	24,30	61	63	64	19,42	20,05	20,37
12	100,57	105,60	104,05	50,10	54,64	53,73	24,69	23,68	25,22	77	88	92	24,51	28,01	29,28
13	100,85	104,01	105,99	50,56	54,12	53,20	25,44	22,25	23,68	81	90	96	25,78	28,65	30,56
14	100,72	103,42	103,80	50,25	54,81	52,87	25,03	22,90	24,25	91	104	113	28,97	33,1	35,97
15	100,60	103,01	103,98	50,61	52,83	52,80	25,74	20,36	25,72	66	83	90	21,01	26,42	28,65
16	100,40	103,22	105,83	50,85	54,67	53,86	25,55	23,14	23,26	96	104	107	30,56	33,1	34,06
17	100,11	103,07	104,48	50,83	52,84	53,73	25,43	21,75	25,70	72	78	82	22,92	24,83	26,1
18	100,69	104,05	105,48	50,26	53,63	54,05	25,11	22,96	27,15	91	114	118	28,97	36,29	37,56
19	100,57	103,64	104,25	50,44	54,08	54,35	25,11	23,04	25,06	80	72	77	25,46	22,92	24,51
20	100,20	102,36	104,84	50,37	52,48	54,54	26,04	22,46	26,86	81	92	101	25,78	29,28	32,15

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: MFE = Massa fresca da extração; MFP= Massa fresca da pesagem; MSP = Massa seca da pesagem; CC= Circunferência Central; DC= Diâmetro Central; g= Gramas; cm= Centímetros.

AMOSTRA	MFE 1 (g)	MFE 2 (g)	MFE 3 (g)	MFP 1 (g)	MFP 2 (g)	MFP 3 (g)	MSP 1 (g)	MSP 2 (g)	MSP 3 (g)	CC 1 (cm)	CC 2 (cm)	CC 3 (cm)	DC 1 (cm)	DC 2 (cm)	DC 3 (cm)
21	100,89	103,85	104,81	50,17	55,72	52,44	25,35	24,35	27,93	90	110	127	28,65	35,01	40,43
22	100,73	105,00	104,30	50,65	52,31	53,64	19,89	27,05	24,68	79	88	92	25,15	28,01	29,28
23	100,67	101,26	103,31	50,77	55,91	53,36	20,31	29,10	25,57	49	59	64	15,6	18,78	20,37
24	100,95	102,70	105,19	50,82	57,27	52,24	19,08	31,08	20,61	93	110	120	29,6	35,01	38,2
25	100,38	105,69	103,41	50,72	52,44	52,60	19,95	27,03	24,56	77	87	93	24,51	27,69	29,6
26	100,93	102,97	104,06	50,80	52,29	52,48	19,69	26,38	23,24	76	104	111	24,19	33,1	35,33
27	100,87	105,36	105,54	50,39	54,52	53,73	19,61	27,80	24,78	60	65	71	19,1	20,69	22,6
28	100,92	101,44	103,80	50,32	53,69	52,43	19,47	27,27	23,09	155	188	197	49,34	59,84	62,71
29	100,82	106,92	104,77	50,32	53,10	52,70	20,44	28,12	24,31	61	66	68	19,42	21,01	21,65
30	100,61	109,58	104,92	50,33	54,55	54,28	20,28	28,12	28,10	90	99	106	28,65	31,51	33,74
31	100,39	116,95	102,87	50,47	52,67	53,98	20,43	29,03	26,00	106	124	130	33,74	39,47	41,38
32	100,33	105,13	103,08	50,43	58,23	52,48	19,93	33,48	26,89	64	77	80	20,37	24,51	25,46
33	100,71	122,10	105,54	50,72	54,47	53,66	21,04	30,83	29,94	81	81	89	25,78	25,78	28,33
34	100,33	102,93	105,54	50,56	55,04	52,93	20,42	29,03	27,17	84	101	107	26,74	32,15	34,06
35	100,96	115,39	105,73	50,53	56,59	52,39	22,94	32,86	25,39	100	113	119	31,83	35,97	37,88
36	110,21	114,40	103,55	50,67	53,08	54,12	21,69	29,26	25,07	75	78	82	23,87	24,83	26,1
37	100,38	105,58	104,36	50,66	57,58	52,32	20,42	29,02	28,42	84	98	109	26,74	31,19	34,7
38	100,82	108,36	104,94	50,45	57,63	52,85	20,81	29,54	25,76	99	109	115	31,51	34,7	36,61
39	117,32	109,66	104,57	50,36	52,09	53,53	21,29	27,66	25,69	65	63	64	20,69	20,05	20,37
40	107,07	105,25	104,73	50,33	53,18	53,25	22,00	29,13	26,59	50	53	54	15,92	16,87	17,19

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: MFE = Massa fresca da extração; MFP= Massa fresca da pesagem; MSP = Massa seca da pesagem; CC= Circunferência Central; DC= Diâmetro Central; g= Gramas; cm= Centímetros.

AMOSTRA	MFE 1 (g)	MFE 2 (g)	MFE 3 (g)	MFP 1 (g)	MFP 2 (g)	MFP 3 (g)	MSP 1 (g)	MSP 2 (g)	MSP 3 (g)	CC 1 (cm)	CC 2 (cm)	CC 3 (cm)	DC 1 (cm)	DC 2 (cm)	DC 3 (cm)
41	103,52	103,22	104,93	50,95	55,71	52,97	21,09	30,85	26,44	95	99	105	30,24	31,51	33,42
42	107,24	108,26	104,53	50,79	54,54	53,41	22,45	32,26	29,48	116	132	142	36,92	42,02	45,2
43	100,14	109,04	102,67	50,74	56,70	52,86	23,80	31,91	26,61	75	79	89	23,87	25,15	28,33
44	100,75	106,68	105,13	50,93	58,51	53,08	23,75	33,85	29,91	41	45	49	13,05	14,32	15,6
45	100,24	108,27	102,18	50,26	56,55	52,98	22,31	32,08	26,92	91	103	107	28,97	32,79	34,06
46	100,47	107,24	104,88	50,85	53,03	54,09	24,43	30,66	28,82	46	46	49	14,64	14,64	15,6
47	100,25	105,19	102,20	50,14	56,14	53,45	24,55	32,91	30,15	75	86	96	23,87	27,37	30,56
48	100,78	109,00	104,72	50,42	55,77	52,91	23,98	31,79	28,44	91	99	105	28,97	31,51	33,42
49	100,97	107,95	102,96	50,90	53,99	53,44	23,86	27,07	31,54	88	95	101	28,01	30,24	32,15
50	100,33	103,80	102,60	50,90	55,13	54,36	25,25	27,50	27,94	76	93	97	24,19	29,6	30,88
51	100,69	102,85	103,53	50,35	57,07	53,08	24,85	28,68	28,45	35	36	37	11,14	11,46	11,78
52	100,40	105,78	103,54	50,33	58,17	52,92	24,30	28,02	29,72	88	101	102	28,01	32,15	32,47
53	100,23	108,49	103,50	50,88	53,16	52,25	25,80	26,32	26,65	79	84	94	25,15	26,74	29,92
54	100,69	104,55	102,23	50,29	54,99	54,14	26,25	27,22	31,56	71	81	82	22,6	25,78	26,1
55	100,68	107,92	104,80	50,90	53,33	52,82	25,29	27,10	31,25	85	88	102	27,06	28,01	32,47
56	100,91	105,27	103,24	50,46	53,72	54,51	24,28	27,62	28,26	95	111	114	30,24	35,33	36,29
57	100,62	107,97	105,68	50,54	52,56	54,15	22,94	27,36	28,89	89	96	102	28,33	30,56	32,47
58	101,13	104,18	102,60	50,34	54,22	54,46	22,95	26,26	30,39	61	68	77	19,42	21,65	24,51
59	100,32	105,10	102,29	50,36	57,91	54,42	23,03	27,80	26,89	109	111	118	34,7	35,33	37,56
60	100,92	106,66	102,28	50,38	57,56	52,78	23,31	28,45	28,00	84	99	108	26,74	31,51	34,38

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: MFE = Massa fresca da extração; MFP= Massa fresca da pesagem; MSP = Massa seca da pesagem; CC= Circunferência Central; DC= Diâmetro Central; g= Gramas; cm= Centímetros.

AMOSTRA	PESO 1 (mg)	PESO 2 (mg)	PESO 3 (mg)	MFE 1 (g)	MS 1 (%)	MS 2 (%)	MS 3 (%)	TOE 1 (mg/g)	TOE 2 (mg/g)	TOE 3 (mg/g)	TP 1 (%)	TP 2 (%)	TP 3 (%)
1	1341	1052	1668	100,28	46,24	43,54	47,39	28,92	23,51	33,27	2,89	2,35	3,33
2	1551	861	1519	100,03	49,36	40,80	41,71	31,41	20,43	35,21	3,14	2,04	3,52
3	1655	925	1289	100,11	45,33	38,32	41,27	36,47	22,84	29,91	3,65	2,28	2,99
4	1568	1071	1615	100,19	47,09	45,48	50,50	33,23	22,85	30,86	3,32	2,29	3,09
5	1324	1167	1750	100,49	48,23	42,32	44,02	27,32	25,91	37,84	2,73	2,59	3,78
6	1469	1067	1545	100,73	46,31	39,49	47,47	31,49	26,08	31,36	3,15	2,61	3,14
7	1626	1146	1703	100,80	47,60	38,83	43,29	33,89	28,16	37,42	3,39	2,82	3,74
8	1367	1180	1482	100,45	46,73	40,56	45,70	29,12	27,65	31,15	2,91	2,77	3,11
9	1570	1073	1618	100,62	50,03	39,16	45,42	31,19	26,54	33,67	3,12	2,65	3,37
10	1644	950	1458	100,37	48,89	40,33	46,16	33,50	22,31	29,85	3,35	2,23	2,99
11	1726	1170	1618	100,95	50,37	37,97	45,73	33,95	29,51	33,47	3,39	2,95	3,35
12	1735	1026	1882	100,57	49,28	43,34	46,94	35,01	22,42	38,53	3,50	2,24	3,85
13	1347	1144	1455	100,85	50,32	41,11	44,51	26,54	26,75	30,84	2,65	2,68	3,08
14	1652	984	1595	100,72	49,81	41,78	45,87	32,93	22,77	33,50	3,29	2,28	3,35
15	1386	1251	1563	100,60	50,86	38,54	48,71	27,09	31,51	30,86	2,71	3,15	3,09
16	1804	1085	1833	100,40	50,25	42,33	43,19	35,76	24,83	40,11	3,58	2,48	4,01
17	1733	1118	1637	100,11	50,03	41,16	47,83	34,60	26,35	32,76	3,46	2,64	3,28
18	1744	1077	1797	100,69	49,96	42,81	50,23	34,67	24,18	33,92	3,47	2,42	3,39
19	1758	1112	1694	100,57	49,78	42,60	46,11	35,11	25,18	35,24	3,51	2,52	3,52
20	1585	1270	1724	100,20	51,70	42,80	49,25	30,60	28,99	33,39	3,06	2,90	3,34

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: PESO = Peso do óleo essencial extraído; MFE= Massa fresca da extração; MS = Teor de massa seca; TOE= Teor de óleo essencial; TP= Teor de óleo essencial em porcentagem; mg= Miligramas; g= Gramas.

AMOSTRA	PESO 1 (mg)	PESO 2 (mg)	PESO 3 (mg)	MFE 1 (g)	MS 1 (%)	MS 2 (%)	MS 3 (%)	TOE 1 (mg/g)	TOE 2 (mg/g)	TOE 3 (mg/g)	TP 1 (%)	TP 2 (%)	TP 3 (%)
21	1665	1244	1759	100,89	50,53	43,70	53,26	32,66	27,41	31,51	3,27	2,74	3,15
22	1259	1458	1899	100,73	39,27	51,71	46,01	31,83	26,85	39,57	3,18	2,69	3,96
23	1399	1436	1632	100,67	40,00	52,05	47,92	34,74	27,25	32,97	3,47	2,72	3,30
24	1365	1368	1892	100,95	37,54	54,27	39,45	36,01	24,54	45,59	3,60	2,45	4,56
25	1205	1570	1805	100,38	39,33	51,54	46,69	30,52	28,82	37,38	3,05	2,88	3,74
26	1391	1454	1716	100,93	38,76	50,45	44,28	35,56	27,99	37,24	3,56	2,80	3,72
27	924	1320	1649	100,87	38,92	50,99	46,12	23,54	24,57	33,88	2,35	2,46	3,39
28	1429	1240	1487	100,92	38,69	50,79	44,04	36,60	24,07	32,53	3,66	2,41	3,25
29	1175	1075	1736	100,82	40,62	52,96	46,13	28,69	18,99	35,92	2,87	1,90	3,59
30	1395	1417	1629	100,61	40,29	51,55	51,77	34,41	25,09	29,99	3,44	2,51	3,00
31	1398	1420	1530	100,39	40,48	55,12	48,17	34,40	22,03	30,88	3,44	2,20	3,09
32	1419	1217	1667	100,33	39,52	57,50	51,24	35,79	20,13	31,56	3,58	2,01	3,16
33	1510	1440	1740	100,71	41,48	56,60	55,80	36,14	20,84	29,55	3,61	2,08	2,95
34	806	1156	1379	100,33	40,39	52,74	51,33	19,89	21,29	25,45	1,99	2,13	2,55
35	1577	1282	1370	100,96	45,40	58,07	48,46	34,41	19,13	26,74	3,44	1,91	2,67
36	1399	1293	1135	110,21	42,81	55,12	46,32	29,65	20,50	23,66	2,97	2,05	2,37
37	1383	1759	2056	100,38	40,31	50,40	54,32	34,18	33,06	36,27	3,42	3,31	3,63
38	1409	1848	2250	100,82	41,25	51,26	48,74	33,88	33,27	43,99	3,39	3,33	4,40
39	1664	1684	2120	117,32	42,28	53,10	47,99	33,55	28,92	42,24	3,35	2,89	4,22
40	1506	1572	2091	107,07	43,71	54,78	49,93	32,18	27,27	39,98	3,22	2,73	4,00

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: PESO = Peso do óleo essencial extraído; MFE= Massa fresca da extração; MS = Teor de massa seca; TOE= Teor de óleo essencial; TP= Teor de óleo essencial em porcentagem; mg= Miligramas; g= Gramas.

AMOSTRA	PESO 1 (mg)	PESO 2 (mg)	PESO 3 (mg)	MFE 1 (g)	MS 1 (%)	MS 2 (%)	MS 3 (%)	TOE 1 (mg/g)	TOE 2 (mg/g)	TOE 3 (mg/g)	TP 1 (%)	TP 2 (%)	TP 3 (%)
41	1420	1712	2059	103,52	41,39	55,38	49,92	33,14	29,95	39,31	3,31	3,00	3,93
42	1544	1645	2008	107,24	44,20	59,15	55,20	32,57	25,69	34,80	3,26	2,57	3,48
43	1382	1904	1778	100,14	46,91	56,28	50,34	29,42	31,03	34,40	2,94	3,10	3,44
44	1551	1789	2177	100,75	46,63	57,85	56,35	33,01	28,99	36,75	3,30	2,90	3,67
45	1619	1357	1918	100,24	44,39	56,73	50,81	36,39	22,09	36,94	3,64	2,21	3,69
46	1554	1711	2051	100,47	48,04	57,82	53,28	32,19	27,60	36,70	3,22	2,76	3,67
47	1661	1667	1856	100,25	48,96	58,62	56,41	33,84	27,03	32,19	3,38	2,70	3,22
48	1255	1539	2195	100,78	47,56	57,00	53,75	26,18	24,77	39,00	2,62	2,48	3,90
49	1669	1358	2081	100,97	46,88	50,14	59,02	35,26	25,09	34,25	3,53	2,51	3,42
50	1461	1278	2006	100,33	49,61	49,88	51,40	29,35	24,68	38,04	2,94	2,47	3,80
51	1831	1361	2026	100,69	49,35	50,25	53,60	36,84	26,33	36,51	3,68	2,63	3,65
52	1464	1330	1974	100,40	48,28	48,17	56,16	30,20	26,10	33,95	3,02	2,61	3,39
53	1709	1698	2459	100,23	50,71	49,51	51,00	33,63	31,61	46,58	3,36	3,16	4,66
54	1539	1536	2243	100,69	52,20	49,50	58,29	29,28	29,68	37,64	2,93	2,97	3,76
55	1735	1688	2477	100,68	49,69	50,82	59,16	34,68	30,78	39,95	3,47	3,08	3,99
56	1474	1386	2278	100,91	48,12	51,41	51,84	30,36	25,61	42,56	3,04	2,56	4,26
57	1684	1487	2304	100,62	45,39	52,05	53,35	36,87	26,46	40,86	3,69	2,65	4,09
58	1657	1575	2214	101,13	45,59	48,43	55,80	35,94	31,21	38,67	3,59	3,12	3,87
59	1642	1542	2258	100,32	45,73	48,01	49,41	35,79	30,56	44,67	3,58	3,06	4,47
60	1479	1425	2561	100,92	46,27	49,43	53,05	31,67	27,03	47,20	3,17	2,70	4,72

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: PESO = Peso do óleo essencial extraído; MFE= Massa fresca da extração; MS = Teor de massa seca; TOE= Teor de óleo essencial; TP= Teor de óleo essencial em porcentagem; mg= Miligramas; g= Gramas.

TR	TR(N-1)	TR(N+1)	N	IRC	COMPOSTO	IRT	AH1	AH2	AH3	AH4	AH5	AH6	AH7	AH8	AH9	AH10	AH11	AH12
4,04	3,543	5,613	9	924	α -tujeno	924	0,49	0,5	0,45	0,46	0,5	0,54	0,49	0,48	0,51	0,52	0,57	0,53
4,178	3,543	5,613	9	931	α -pineno	932	1,97	1,81	1,86	1,85	1,89	1,93	1,98	1,8	1,95	2,02	2,11	2,04
5,387	3,543	5,613	9	989	mirceno	988	0,77	0,73	0,69	0,71	0,72	0,76	0,75	0,72	0,75	0,74	0,78	0,77
5,727	5,613	8,592	10	1004	α -felandreno	1002	0,23	0,23	0,2	0,21	0,21	0,24	0,22	0,21	0,21	0,22	0,24	0,23
6,055	5,613	8,592	10	1015	α -terpineno	1014	9,61	9,35	8,66	8,75	8,9	9,55	9,57	9,1	9,22	9,25	9,62	9,43
6,258	5,613	8,592	10	1022	p-cimeno	1020	1,87	1,75	2,35	2,26	2,04	1,99	2,02	1,82	2,21	2,18	2,17	2,23
6,375	5,613	8,592	10	1026	limoneno	1024	1,22	1,21	1,14	1,16	1,17	1,23	1,21	1,16	1,2	1,21	1,25	1,25
6,44	5,613	8,592	10	1028	1.8-cineol	1026	1,91	1,83	1,74	1,71	1,71	1,82	1,88	1,84	1,89	1,74	1,74	1,85
7,275	5,613	8,592	10	1056	γ -terpineno	1054	19,99	19,81	19,48	19,6	19,56	19,9	20,13	19,5	19,97	20,07	20,39	20,23
8,168	5,613	8,592	10	1086	terpinoleno	1086	3,26	3,24	3,09	3,13	3,14	3,25	3,24	3,17	3,21	3,21	3,29	3,26
11,352	8,592	12,215	11	1176	terpinen-4-ol	1174	45,68	46,59	45,84	46,37	46,68	46,51	46,35	47,33	46,06	45,25	45,38	45,38
11,765	8,592	12,215	11	1188	α -terpineol	1186	3,52	3,53	3,53	3,6	3,6	3,56	3,54	3,63	3,54	3,49	3,48	3,49
21,255	20,063	23,905	14	1431	aromadendreno	1439	0,23	0,28	0,29	0,3	0,3	0,23	0,21	0,25	0,25	0,28	0,3	0,29
23,445	20,063	23,905	14	1488	biciclogermacren o	1500	0,26	0,39	0,34	0,35	0,38	0,33	0,25	0,32	0,33	0,35	0,38	0,37
24,562	23,905	27,602	15	1518	δ -cadineno	1522	0,37	0,45	0,51	0,5	0,48	0,38	0,36	0,43	0,42	0,47	0,48	0,49
IDENTIFICADOS (%)							91,38	91,7	90,17	90,96	91,28	92,22	92,2	91,76	91,72	91	92,18	91,84

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: TR = Tempo de retenção do composto; TR(N-1)= Tempo de retenção alcano anterior; TR(N+1)=Tempo de retenção alcano posterior; N= Número de carbonos alcano; IRC= Índice de retenção calculado; IRT = Índice de retenção tabelado; AH= Amostra homogeneizada.

TR	TR(N-1)	TR(N+1)	N	IRC	COMPOSTO	IRT	AH1	AH2	AH3	AH4	AH5	AH6	AH7	AH8	AH9	AH10	AH11	AH12
4,04	3,543	5,613	9	924	α -tujeno	924	0,39	0,44	0,48	0,48	0,45	0,46	0,39	0,45	0,43	0,5	0,45	0,47
4,178	3,543	5,613	9	931	α -pineno	932	1,84	2,12	2,23	2,21	1,97	1,95	1,94	2,09	2,08	2,1	1,92	2,07
5,387	3,543	5,613	9	989	mirceno	988	0,7	0,73	0,76	0,77	0,73	0,73	0,68	0,72	0,73	0,78	0,71	0,74
5,727	5,613	8,592	10	1004	α -felandreno	1002	0,2	0,19	0,2	0,21	0,2	0,21	0,17	0,19	0,19	0,22	0,2	0,21
6,055	5,613	8,592	10	1015	α -terpineno	1014	8,92	8,93	9,22	9,3	8,96	9,13	8,33	8,72	8,99	9,63	8,76	9,16
6,258	5,613	8,592	10	1022	p-cimeno	1020	2,29	2,53	2,94	3,41	2,73	2,46	3,03	2,79	2,8	2,86	2,56	2,39
6,375	5,613	8,592	10	1026	limoneno	1024	1,16	1,17	1,24	1,28	1,19	1,18	1,11	1,17	1,19	1,29	1,16	1,22
6,44	5,613	8,592	10	1028	1.8-cineol	1026	1,95	1,66	1,55	1,65	1,87	1,76	1,99	1,58	1,68	1,59	1,85	1,76
7,275	5,613	8,592	10	1056	γ -terpineno	1054	20,07	20,65	21,67	22,09	20,61	20,43	19,96	20,45	20,88	22,1	20,2	20,79
8,168	5,613	8,592	10	1086	terpinoleno	1086	3,17	3,2	3,32	3,34	3,18	3,21	3,02	3,14	3,22	3,42	3,14	3,26
11,352	8,592	12,215	11	1176	terpinen-4-ol	1174	47,05	44,75	42,69	42,26	46,23	46,61	46,71	46,16	44,33	42,53	46,24	44,65
11,765	8,592	12,215	11	1188	α -terpineol	1186	3,61	3,51	3,46	3,49	3,49	3,57	3,59	3,53	3,52	3,45	3,54	3,45
21,255	20,063	23,905	14	1431	aromadendreno	1439	0,25	0,34	0,3	0,29	0,28	0,23	0,26	0,19	0,25	0,28	0,33	0,34
23,445	20,063	23,905	14	1488	biciclogermacreno	1500	0,23	0,31	0,27	0,26	0,26	0,25	0,23	0,29	0,23	0,28	0,32	0,33
24,562	23,905	27,602	15	1518	δ -cadineno	1522	0,43	0,59	0,52	0,47	0,46	0,38	0,48	0,5	0,44	0,44	0,53	0,58
IDENTIFICADOS (%)							92,26	91,12	90,85	91,51	92,61	92,56	91,89	91,97	90,96	91,47	91,91	91,42

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: TR = Tempo de retenção do composto; TR(N-1)= Tempo de retenção alcano anterior; TR(N+1)=Tempo de retenção alcano posterior; N= Número de carbonos alcano; IRC= Índice de retenção calculado; IRT = Índice de retenção tabelado; AH= Amostra homogeneizada.

TR	TR(N-1)	TR(N+1)	N	IRC	COMPOSTO	IRT	AH1	AH2	AH3	AH4	AH5	AH6	AH7	AH8	AH9	AH10	AH11	AH12
4,04	3,543	5,613	9	924	α -tujeno	924	0,51	0,51	0,45	0,58	0,52	0,62	0,6	0,49	0,52	0,52	0,53	0,6
4,178	3,543	5,613	9	931	α -pineno	932	1,91	1,98	1,83	2,05	1,86	2,05	2	1,68	1,75	2,01	1,88	1,9
5,387	3,543	5,613	9	989	mirceno	988	0,73	0,75	0,72	0,75	0,75	0,8	0,79	0,72	0,75	0,76	0,74	0,78
5,727	5,613	8,592	10	1004	α -felandreno	1002	0,22	0,22	0,21	0,23	0,23	0,26	0,24	0,21	0,24	0,23	0,23	0,24
6,055	5,613	8,592	10	1015	α -terpineno	1014	9,44	9,57	9,2	9,43	9,46	10,17	9,99	9,11	9,81	9,69	9,53	9,93
6,258	5,613	8,592	10	1022	ρ -cimeno	1020	1,71	1,79	1,79	1,57	1,82	1,47	1,56	1,83	1,27	1,71	1,7	1,23
6,375	5,613	8,592	10	1026	limoneno	1024	1,2	1,23	1,18	1,22	1,19	1,28	1,27	1,18	1,24	1,22	1,21	1,27
6,44	5,613	8,592	10	1028	1.8-cineol	1026	1,85	1,79	1,47	1,14	1,69	1,67	1,82	1,68	1,58	1,29	1,74	1,68
7,275	5,613	8,592	10	1056	γ -terpineno	1054	19,71	20,2	19,85	19,74	19,46	20,18	20,16	19,3	20,28	20,39	19,76	19,92
8,168	5,613	8,592	10	1086	terpinoleno	1086	3,3	3,31	3,3	3,38	3,28	3,43	3,42	3,26	3,48	3,38	3,31	3,47
11,352	8,592	12,215	11	1176	terpinen-4-ol	1174	43,98	44,31	45,44	42,96	45,76	43,8	42,89	45,99	42,91	43,89	44,88	42,37
11,765	8,592	12,215	11	1188	α -terpineol	1186	3,41	3,43	3,59	3,59	3,58	3,43	3,34	3,58	3,36	3,59	3,48	3,35
21,255	20,063	23,905	14	1431	aromadendreno	1439	0,38	0,37	0,3	0,42	0,23	0,29	0,39	0,27	0,41	0,29	0,33	0,43
23,445	20,063	23,905	14	1488	biciclogermacren o	1500	0,66	0,56	0,49	0,86	0,47	0,6	0,67	0,6	0,78	0,5	0,61	0,85
24,562	23,905	27,602	15	1518	δ -cadineno	1522	0,69	0,62	0,53	0,7	0,4	0,48	0,71	0,47	0,69	0,49	0,55	0,72
IDENTIFICADOS (%)							89,7	90,64	90,35	88,62	90,7	90,53	89,85	90,37	89,07	89,96	90,48	88,74

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: TR = Tempo de retenção do composto; TR(N-1)= Tempo de retenção alcano anterior; TR(N+1)=Tempo de retenção alcano posterior; N= Número de carbonos alcano; IRC= Índice de retenção calculado; IRT = Índice de retenção tabelado; AH= Amostra homogeneizada.