

**Universidade Federal de Goiás**  
**Instituto de Química**

**ALESSANDRA RODRIGUES DUARTE**

**COMPOSIÇÃO E VARIABILIDADE QUÍMICA DOS ÓLEOS  
ESSENCIAIS DAS FOLHAS E FRUTOS DE *Eugenia dysenterica***

**Goiânia**  
**2008**

ALESSANDRA RODRIGUES DUARTE

**COMPOSIÇÃO E VARIABILIDADE QUÍMICA DOS ÓLEOS  
ESSENCIAIS DAS FOLHAS E FRUTOS DE *Eugenia dysenterica***

Dissertação apresentada no Programa de Mestrado em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Química.

**Área de concentração:** Química de Produtos Naturais

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri

Goiânia

2008

**Ele converte rios em desertos, e nascentes em terra sedenta;  
Salmo 107:33**

## **Agradecimentos**

- **Ao meu orientador, Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri, por todos os ensinamentos, paciência, confiança e dedicação.**
- **A todos os colegas do Instituto de Química, especialmente a Carolina Brom Aki, Deomar Plácido, Erika, Flávia Neri, Juvan Pereira, Michelly Patrícia, por toda ajuda técnica e por toda contribuição nas discussões sobre o trabalho.**
- **Ao Prof. Dr. Ronaldo Veloso por ter contribuído de forma direta na coleta das folhas de Cagaita nas regiões contempladas neste trabalho.**
- **A Prof. Dr<sup>a</sup>. Suzana da Costa Santos, por todos os ensinamentos e apoio durante o mestrado.**
- **A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Química do Instituto de Química da UFG, em especial ao Prof. Dr. Paulo Sérgio de Souza e Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira por todo conhecimento transferido durante a realização de suas disciplinas.**
- **A Deus por tornar possível a realização e concretização de todo trabalho. Aos meus pais Marilda Helena Duarte da Silveira e Sidinei Rodrigues da Silveira e aos meus irmãos por todo amor e apoio. A Gilda Gomes e a Taisa Cardoso por toda amizade e incentivo.**

## Sumário

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Óleos essenciais	1
1.2. Fatores que afetam a variabilidade dos óleos essenciais	4
1.3. <i>Eugenia dysenterica</i> DC	5
1.4. Análise estatística	7
CAPÍTULO 1 - Variabilidade química nos constituintes voláteis das folhas de <i>Eugenia dysenterica</i> de populações cultivadas e silvestres	9
1. OBJETIVO	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS	10
2.1. Material botânico	10
2.2. Extração dos óleos essenciais	10
2.3. Análise química dos óleos essenciais	10
2.4. Dados edafo-climáticos	11
2.5. Análise estatística	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4. CONCLUSÃO	24
CAPÍTULO 2 – Variação sazonal nos constituintes voláteis nas folhas de <i>Eugenia dysenterica</i>	25
1. OBJETIVO	26
2. MATERIAIS E MÉTODOS	26
2.1. Material botânico	26
2.2. Extração dos óleos essenciais	26
2.3. Análise química dos óleos essenciais	27
2.4. Análise estatística	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4. CONCLUSÃO	36
CAPÍTULO 3 – Variação nos constituintes voláteis dos frutos de <i>Eugenia</i> <i>dysenterica</i>	37

1.	OBJETIVO	38
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	38
	2.1. Material botânico	38
	2.2. Extração dos óleos essenciais	38
	2.3. Análise química dos óleos essenciais	38
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
	APÊNDICE	49
	Apêndice 1	49
	Apêndice 2	50
	Apêndice 3	52
	Apêndice 4	55

## RESUMO

A variação na composição química do óleo essencial em populações silvestres e cultivadas de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) indicou a presença de dois grupos de óleos em relação à origem das amostras. O grupo I incluiu amostras cultivadas (subgrupo IA) ou majoritariamente silvestres (subgrupo IB) provenientes de Senador Canedo (SC), contendo altas percentagens de  $\alpha$ -pineno ( $9,0 \pm 2,3\%$ ),  $\beta$ -pineno ( $9,3 \pm 2,6\%$ ), (Z)- $\beta$ -ocimeno ( $5,9 \pm 4,2\%$ ) e  $\gamma$ -cadineno ( $27 \pm 5\%$ ), limoneno ( $12 \pm 9\%$ ) e óxido de cariofileno ( $7,4 \pm 4,7\%$ ), respectivamente. O grupo II caracterizou-se pelas amostras coletadas em Campo Alegre de Goiás (CA), silvestres ou cultivadas, cujos constituintes majoritários foram o  $\beta$ -cariofileno ( $24 \pm 8\%$ ),  $\delta$ -cadineno ( $13 \pm 4\%$ ) e  $\alpha$ -copaeno ( $9,6 \pm 3,2\%$ ). A análise por correlação canônica indicou que limoneno,  $\gamma$ -cadineno, óxido de cariofileno, Zn, Cu, Fe, Mn, médias mensais de temperatura e precipitação foram fortemente correlacionados às amostras silvestres de SC (subgrupo IB), enquanto (Z)- $\beta$ -ocimeno,  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno,  $\delta$ -cadineno, e P correlacionaram-se às amostras silvestres de CA e a todas as amostras cultivadas, independentemente da origem da população (subgrupo IA e grupo II). Em todas as populações os óleos essenciais apresentaram predominantemente hidrocarbonetos sesquiterpênicos e as variações químicas observadas entre as populações parecem ser geneticamente determinadas (quimiotipos), com uma nítida influência de fatores edafo-climáticos sobre as amostras originadas da população de SC (ecótipo).

Variações químicas na composição do óleo essencial de populações cultivadas de *E. dysenterica* nas estações seca e chuvosa indicaram, ainda, a presença de dois grupos de óleos em relação à origem e às estações de coleta. O grupo I inclui amostras coletadas na seca (subgrupo IA) e principalmente, amostras coletadas na chuva (subgrupo IB) originárias de Senador Canedo (SC), com elevadas quantidades de  $\beta$ -pineno ( $9,3 \pm 2,6\%$ ),  $\alpha$ -pineno ( $9,0 \pm 2,3\%$ ), (Z)- $\beta$ -ocimeno ( $5,9 \pm 4,2\%$ ) e  $\gamma$ -cadineno ( $17 \pm 11\%$ ), limoneno ( $14 \pm 9\%$ ) e  $\beta$ -pineno ( $8,6 \pm 5,4\%$ ), respectivamente. No grupo II, que inclui amostras cultivadas provenientes de Campo Alegre de Goiás de ambas as estações, os principais constituintes foram  $\beta$ -cariofileno ( $32 \pm 15\%$ ),  $\delta$ -

cadineno ( $13 \pm 6\%$ ) e  $\alpha$ -copaeno ( $8,1 \pm 4,0\%$ ). Também neste caso, os sesquiterpenos hidrocarbonetos predominaram em todas as populações amostradas e foi observado que a variação química dos óleos essenciais pode ser geneticamente determinada, além de possuir uma clara influência sazonal no caso das amostras provenientes da SC.

Quanto aos óleos essenciais dos frutos de *E. dysenterica*, coletados durante três estádios de maturação, o grupo de constituinte mais abundante dos óleos essenciais foi os dos hidrocarbonetos monoterpenos representando cerca de 68% do total de compostos identificados. Limoneno (25,8% e 24,6%), (E)- $\beta$ -ocimeno (20,3% e 21,7%) e  $\beta$ -pineno (12,0% e 14,2%) foram os constituintes majoritários nos estágios verdes e semi-maduros, respectivamente, enquanto  $\gamma$ -muuroleno (25,8%),  $\beta$ -cariofileno (18,4%) e  $\alpha$ -humuleno (15,4%) preponderaram nos frutos maduros. A concentração de monoterpenes foi elevada nos estágios verde e semi-maduros e diminuiu com o amadurecimento do fruto, enquanto os sesquiterpenos foram intensamente sintetizados apenas na última parte do processo de maturação.

## ABSTRACT

The chemical variations in the essential oil compositions of the wild and cultivated *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) populations indicated the presence of two clusters of oils according to sampling origin. The cluster I included cultivate (subcluster IA) and mainly wild samples (subcluster IB) originating from Senador Canedo (SC), with high percentages of  $\alpha$ -pinene ( $9.0 \pm 2.3\%$ ),  $\beta$ -pinene ( $9.3 \pm 2.6\%$ ), (Z)- $\beta$ -ocimene ( $5.9 \pm 4.2\%$ ) and  $\gamma$ -cadinene ( $27 \pm 5\%$ ), limonene ( $12 \pm 9\%$ ), and caryophyllene oxide ( $7.4 \pm 4.7\%$ ), respectively. In cluster II, with wild and cultivated samples originating from Campo Alegre de Goiás, the major constituents were  $\beta$ -caryophyllene ( $24 \pm 8\%$ ),  $\delta$ -cadinene ( $13 \pm 4\%$ ), and  $\alpha$ -copaene ( $9.6 \pm 3.2\%$ ). The canonical correlation analysis revealed that limonene,  $\gamma$ -cadinene, caryophyllene oxide, Zn, Cu, Fe, Mn, and mean monthly values of temperature and precipitation were quite strongly related to SC wild samples (subcluster IB), whereas (Z)- $\beta$ -ocimene,  $\alpha$ -copaene,  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -humulene,  $\delta$ -cadinene, and P were related to wild samples from CA and cultivated samples, regardless of population origin (subcluster IA and cluster II). Sesquiterpene hydrocarbons predominated in all population sampled and the observed essential oil chemovariation might be genetically determined (chemotypes), in addition to a clear environmental influence on the samples originating from SC site (ecotypes).

Chemical variations in essential oil compositions of cultivated *E. dysenterica* populations in dry and wet seasons have indicated the presence of two oil clusters related to sampling origin and seasons. Cluster I included dry (subcluster IA) and mainly wet samples (subcluster IB) originating from Senador Canedo (SC), with high percentages of  $\beta$ -pinene ( $9.3 \pm 2.6\%$ ),  $\alpha$ -pinene ( $9.0 \pm$

2.3%), (Z)- $\beta$ -ocimene ( $5.9 \pm 4.2\%$ ) and  $\gamma$ -cadinene ( $17 \pm 11\%$ ), limonene ( $14 \pm 9\%$ ), and  $\beta$ -pinene ( $8.6 \pm 5.4\%$ ), respectively. In cluster II, which included dry and wet cultivated samples originating from Campo Alegre de Goiás, the major constituents were  $\beta$ -caryophyllene ( $32 \pm 15\%$ ),  $\delta$ -cadinene ( $13 \pm 6\%$ ), and  $\alpha$ -copaene ( $8.1 \pm 4.0\%$ ). Here also, sesquiterpene hydrocarbons predominated in all the sampled populations and the observed essential oil chemovariation might be genetically determined, in addition to a clear seasonal influence only on the samples originating from the SC site.

In addition, the oils from wild *E.* fruits harvested during three stages of ripening showed the monoterpene hydrocarbons as most abundant group of volatiles, accounting for about 68% of the total identified compounds. Limonene (25.8% and 24.6%), (E)- $\beta$ -ocimene (20.3% and 21.7%) and  $\beta$ -pinene (12.0% and 14.2%) were the compounds in the unripe and semi-ripe stages, respectively, while  $\gamma$ -muurolene (25.8%),  $\beta$ -caryophyllene (18.4%) and  $\alpha$ -humulene (15.4%) became the major compounds in ripe fruits. The concentration of monoterpenes was high in the unripe and semi-ripe stages and decreased afterwards, while sesquiterpenes were intensively synthesized only in the last part of the ripening process.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema simplificado da biossíntese de terpenos nas plantas.	2
Figura 2	Frutos de <i>E. dysenterica</i> e uma cagaiteira adulta.	6
Figura 3	Constituintes químicos majoritários do óleo essencial de <i>E. dysenterica</i> . 1: $\alpha$ -pineno; 2: $\beta$ -pineno; 4: limoneno; 10: $\beta$ -cariofileno; 14: $\alpha$ -humuleno; 24: $\gamma$ -cadineno; 26: $\delta$ -cadineno.	13
Figura 4	Distribuição dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas de <i>E. dysenterica</i> provenientes de SC (símbolos vazios) e CA (símbolos sombreados) de populações silvestres (círculos) e cultivadas (quadrados). <sup>a</sup> Eixos referentes aos escores das amostras. <sup>b</sup> Eixos referentes aos escores dos constituintes químicos dos óleos essenciais, com os constituintes discriminantes representados por vetores a partir da origem. Os valores percentuais entre parêntesis fornecem a variância representada em cada Componente Principal.	16
Figura 5	Mapa hidrográfico de Goiás com as cidades de Senador Canedo (SC) e Campo Alegre de Goiás (CA).	17
Figura 6	Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos de 31 amostras de <i>E. dysenterica</i> . O grupo I representa amostras de Senador Canedo/GO (símbolos vazios) e o grupo II as amostras oriundas de Campo Alegre de Goiás/GO (símbolos sombreados). Os círculos reaperentam as populações silvestres e os quadrados as cultivadas.	18
Figura 7	Gráfico das funções de discriminante canônicas de amostras de <i>E. dysenterica</i> de SC (símbolos vazios) CA (símbolos sombreados) de populações silvestres (círculos) e cultivadas (quadrados). <sup>a</sup> Eixos referentes aos escores das amostras. <sup>b</sup> Eixos referentes aos escores das variáveis preditoras	20

representadas como vetores a partir da origem. A seta indica a amostra mal classificada. As cruzes representam os centróides dos grupos e os valores entre parênteses referem-se a variância explicada em cada eixo discriminante.

- Figura 8 Gráfico da PCA dos óleos essenciais de espécimes cultivadas de *E. dysenterica* de populações silvestres de SC (quadrados) e de CA (círculos), coletadas na estação chuvosa (símbolos sombreados) e na seca (símbolos vazios). <sup>a</sup>Eixos referentes aos escores das amostras. <sup>b</sup>Eixos referentes aos escores dos constituintes químicos, com os discriminantes representados por vetores a partir da origem. 33
- Figura 9 Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos de 47 amostras de *E. dysenterica* de acordo com a distância Euclidiana O grupo I representa amostras de SC (círculos) e o grupo II as oriundas de CA (quadrados). Símbolos sombreados representam as amostras coletadas no período chuvoso e os símbolos vazios, na seca. 34
- Figura 10 Variação das classes biossintéticas dos terpenos e dos ésteres identificados nos constituintes voláteis durante o amadurecimento dos frutos de *E. dysenterica*. 41

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Localização das populações de <i>E. dysenterica</i> amostradas no sudeste de Goiás <sup>a</sup> .	5
Tabela 2	Porcentagem <sup>a</sup> dos constituintes químicos dos óleos essenciais de <i>E. dysenterica</i> silvestres e cultivadas coletadas em duas regiões do Cerrado/GO.	14
Tabela 3	Resumo da análise de discriminante canônico do óleo das folhas de <i>E. dysenterica</i> .	20
Tabela 4	Sumário da Análise de correlação canônica dos constituintes dos óleos essenciais de <i>Eugenia dysenterica</i> e dos dados edafoclimáticos.	24
Tabela 5	Percentagens <sup>a</sup> dos constituintes do óleo essencial de <i>E. dysenterica</i> cultivadas, provenientes de dois sítios de amostragem do Cerrado/GO, e coletadas nas estações seca e chuvosa.	29
Tabela 6	Sumário da Análise de correlação canônica dos constituintes químicos dos óleos essenciais de espécimes cultivadas de <i>E. dysenterica</i> coletados nas estações chuvosa e seca do Cerrado/GO.	35
Tabela 7	Variação nos constituintes químicos dos óleos essenciais dos frutos de <i>E. dysenterica</i> durante três estágios do amadurecimento.	40

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Óleos essenciais

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas e contribuem para a fragrância ou essência das plantas que os produzem. São pouco solúveis em água, possuem sabor geralmente acre e picante. Em geral, não são muito estáveis principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais (SIMÕES et al., 2005). Possuem tensão de vapor mais elevada que a da água, sendo assim, podem ser extraídos por arraste por vapor d'água.

As principais famílias que produzem os óleos essenciais pertencem às angiospermas dicotiledôneas, tais como Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Piperaceae e Rutaceae entre outras (SIMÕES et al., 2005).

Os óleos essenciais constituem-se de uma grande variedade de substâncias, como hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre (SIMÕES et al., 2005). Dentre as substâncias que constituem os óleos essenciais destacam-se os terpenóides pela grande variedade estrutural.

Os terpenóides são compostos formados pela fusão de unidades isoprênicas ( $C_5$ ). Sua biossíntese pelas plantas ocorre por duas vias, a rota do ácido mevalônico derivada do acetilCoA e a rota do fosfato de metileritritol (Figura 1). Os terpenóides que fazem parte da fração volátil dos metabólitos especiais (ou secundários) são em geral monoterpenos e sesquiterpenos, terpenos com 10 e 15 carbonos respectivamente, formados pela junção de duas e três unidades isoprênicas.



Os compostos terpenóides apresentam papel importante na interação entre plantas e animais, sendo muitas vezes descritos como defesa química constitutiva das plantas. Espécies de besouros evitam se alimentar de tomates (*Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl.; Solanaceae) por causa do alto conteúdo do sesquiterpeno zingiberene em seus tricomas glandulares (HARBORNE, 1993). Também tem sido observada a participação de terpenóides nas defesas induzidas das plantas. O sesquiterpeno (E)- $\beta$ -farneseno foi encontrado em grande quantidade após a deposição de ovos do herbívoro *Diprion pini* L. (Hymenoptera, Diprionidae) em *Pinus sylvestris* L. (Pinaceae) (MUMM et al., 2004). Os compostos (E)- $\beta$ -ocimeno e (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno foram detectados em plantas infestadas por aranhas *Tetranychus urticae* Koch (Acari, Tetranychidae). Esses compostos voláteis atraem para a planta o predador da aranha, o ácaro *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari, Phytoseiidae) (HARBORNE, 1993). Estudos com a espécie modelo em genética de planta, a *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae) mostraram que está emitindo altas quantidades de (E)- $\beta$ -cariofileno após o ataque do parasitóide *Anagrus nilaparvatae* Pang & Wang (Hymenoptera: Mymaridae) (CHENG et al., 2007).

Os terpenóides das essências das flores atraem os insetos polinizadores, como a orquídea do gênero *Ophrys* que libera (-)- $\gamma$ -cadineno, o ferormônio de atração sexual de machos de abelhas do gênero *Andrera* (BORG-KARLSON, 1990). Por sua vez, o óleo essencial das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) é constituído principalmente por,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno, limoneno,  $\alpha$ -tujeno,  $\alpha$ -terpineol e óxido de cariofileno, aos quais tem sido atribuída atividade antifúngica frente a *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, um fungo sistêmico humano, com alta prevalência em pacientes imunodeprimidos (COSTA et al., 2000).

O cultivo de plantas produtoras de óleos essenciais tem crescido devido a sua utilização crescente nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica. Embora a maior utilização seja na área de alimentos (condimentos e aromatizantes) e em cosmética (perfumes e produtos de higiene), os óleos essenciais têm sido cada vez mais utilizados pelas indústrias farmacêuticas.

## 1.2. Fatores que afetam a variabilidade dos óleos essenciais

A composição química dos óleos essenciais de uma planta é determinada geneticamente, mas pode ser influenciada por fatores abióticos tais como luz, sazonalidade, temperatura, níveis de nutrição e água, entre outros (SIMÕES et al., 2005).

Segundo Lima et al. (2003), a baixa intensidade luminosa geralmente, diminui a produção de monoterpenos. Pequenas variações diárias de temperaturas estimulam a produção de terpenóides, enquanto que valores extremos causam sua redução. Os índices de precipitação não seguem um padrão, variando sua influência entre as espécies. A chuva contínua pode resultar na perda de substâncias hidrossolúveis das folhas e raízes por lixiviação, enquanto que o aumento do teor de nitrogênio e fósforo no solo pode favorecer um maior rendimento no conteúdo do óleo essencial. Observou-se que o aumento na altitude conduz a um decréscimo no conteúdo dos óleos voláteis de tomilho e hortelã pimenta (LOPES & NETO-GOBBO, 2007). A época do ano em que a planta é coletada também influenciou no conteúdo do óleo essencial, visto que existiam períodos de maior acúmulo de óleo essencial pela planta.

A existência de quimiotipos – vegetais botanicamente idênticos, mas que diferem quimicamente – é freqüente em plantas ricas em óleos essenciais. A divergência química em espécie pode ser devido a influências epigenéticas ou ambientais, como já citado anteriormente. Estudos realizados por Telles et al. (2001) e por Zucchi et al. (2005) revelaram divergências genéticas entre dez populações de *E. dysenterica* nativas da região sudeste do estado de Goiás (Tabela 1). O principal motivo associado à variação genética foi a distância geográfica das populações. As mais próximas no espaço geográfico apresentaram-se, também, mais similares geneticamente. As populações 1-8, situadas ao leste da bacia do rio Corumbá, formaram um agrupamento similar, enquanto as populações 9 e 10, localizadas a oeste da bacia e próximas a Goiânia formam outro agrupamento, conforme revelou a análise estatística.

**Tabela 1** - Localização das populações de *E. dysenterica* amostradas no sudeste de Goiás<sup>a</sup>.

Área	Localidade	Altitude (m)	Latitude (S)	Longitude (W)
1	Catalão	880	18°7'35"	47°54'20"
2	Catalão	860	18°2'0,3"	48°2'31"
3	Catalão	800	18°13'39"	47°58'12"
4	Três Ranchos	820	18°17'15"	47°48'41"
5	Campo Alegre de Goiás	930	17°39'22"	47°46'37"
6	Campo Alegre de Goiás	780	17°34'24"	47°42'12"
7	Cristalina	890	17°10'47"	47°31'7"
8	Luziânia	900	16°28'48"	47°48'40"
9	Goiânia	740	16°40'30"	49°14'40"
10	Senador Canedo	840	16°37'13"	49°4'29"

<sup>a</sup>TELLES et al., 2001.

### 1.3. *Eugenia dysenterica* DC.

*E. dysenterica* (Figura 2), pertencente à família Myrtaceae, espécie próxima a da pitanga, araçá e da uvaia. É uma planta perene, típica de regiões onde predomina o clima subtropical mais fresco e vegetam em regiões de cerradões em solos menos pobres. Sua madeira é empregada em pequenas obras de construção civil, para móveis rústicos, estrados, para uso externo como moirões e estacas, bem como para lenha e carvão. As flores são apícolas. A casca foi outrora muito empregada na indústria de curtume. A árvore é muito ornamental quando em flor, podendo ser empregada na arborização paisagística. Os frutos são consumidos por algumas espécies de aves silvestres (LORENZI, 1998), sendo consumidos ao natural, mas se tiverem fermentado ao sol funcionam como laxantes (daí a origem de seu nome popular), causando um mal-estar semelhante à embriaguez. Por outro lado, a infusão de folhas e da casca da árvore tem efeito contrário, sendo muito utilizada pela medicina popular como anti-diarréico.



**Figura 2** - Frutos de *E. dysenterica* e uma cagaiteira adulta.

*E. dysenterica* é bem conhecida na medicina popular, com a casca da árvore considerada antidiarréica e as folhas usadas pelos diabéticos. Os frutos também possuem ampla utilização como alimento e matéria-prima para a produção de vinagre e álcool após serem submetidos à fermentação. O fruto da cagaiteira possui alto teor de vitamina C, e a sua polpa ou suco pode ser utilizado na produção de refrescos, geléias, doces, licores, sorvetes ou conservados através do congelamento (FONSECA & MUNIZ, 1992). Os frutos são considerados por ter um grande potencial econômico através do cultivo, tal qual

tem ocorrido com *Eugenia uniflora* L. (pitangueira). Todavia, a planta tem sido utilizada apenas de maneira predatória.

#### **1.4. Análise estatística**

A análise estatística multivariada permite uma avaliação ampla de dados químicos, por meio de técnicas como a análise de componentes principais, análise de agrupamentos, análise de discriminante canônico, análise de variância e análise de correlação canônica. Neste trabalho, estas técnicas foram empregadas para melhor visualização dos resultados químicos e edafo-climáticos com respeito a diferentes populações de *E. dysenterica*.

A análise de componentes principais é uma técnica exploratória cuja finalidade é fazer uma redução na dimensionalidade dos dados originais retendo o máximo de informação nos primeiros eixos fatoriais. Os eixos fatoriais, ortogonais entre si, são as componentes principais geradas a partir da combinação linear das variáveis do conjunto de dados originais, com cada variável possuindo um peso na combinação linear. Esse peso corresponde ao co-seno do ângulo entre o eixo da componente principal e o eixo da variável original.

A projeção de cada amostra no novo sistema de coordenadas fornece os escores. Para visualização da influência das variáveis na combinação linear ou nos agrupamentos das amostras, um gráfico com os pesos (loadings) pode ser gerado. A primeira componente principal descreve a direção da maior variação dos dados. A segunda descreve a segunda maior variação dos dados e assim sucessivamente.

Análise de agrupamentos é um conjunto de técnicas cuja finalidade primária é agregar indivíduos com base nas características que eles possuem. A análise classifica os indivíduos em agrupamentos de modo que indivíduos de um mesmo grupo apresentem elevada homogeneidade interna e elevada heterogeneidade externa (HAIR et al., 2005). A similaridade entre os indivíduos pode ser medida pela distância Euclidiana entre cada par de observações. Distâncias menores indicam maior similaridade.

No procedimento hierárquico de agrupamentos, cada indivíduo começa como seu próprio agrupamento. Em passos seguintes, os dois agrupamentos (ou indivíduos) mais próximos são combinados em um novo agregado, reduzindo assim o número de agrupamentos em uma unidade em cada passo. No método de Ward, a distância entre os agrupamentos é a soma dos quadrados entre os dois agrupamentos feita sobre todas as variáveis. Em cada estágio do procedimento de agrupamento, a soma interna de quadrados é minimizada sobre todas as partições que podem ser obtidas pela combinação de dois agrupamentos com um número pequeno de indivíduos. Este método tende a produzir agregados com aproximadamente o mesmo número de indivíduos devido a sua minimização da variação interna (HAIR et al., 2005).

A análise de variância é uma técnica que permite a comparação simultânea de médias de vários grupos (ou tratamentos), com a utilização da distribuição F. Já a Análise de Discriminantes Canônicas constrói funções discriminantes a partir de combinações lineares das variáveis originais, efetuando a correlação cruzada das variáveis e amostras a fim de estabelecer a habilidade preditiva das funções discriminantes canônicas. As combinações lineares com maior poder de separação dos grupos são as que forneceria o menor valor da probabilidade de significância ( $p$ ), considerando-se os dados observados e o teste de Wilks para a comparação das médias populacionais (HAIR et al., 2005).

Na Análise de Correlação Canônica o objetivo é correlacionar simultaneamente diversas variáveis dependentes com diversas variáveis independentes. A técnica consiste em desenvolver uma combinação linear de cada conjunto de variáveis (independentes e dependentes) para maximizar a correlação entre os dois conjuntos. O procedimento envolve a obtenção de um conjunto de pesos para as variáveis dependentes e independentes que fornece a correlação simples máxima entre o conjunto de variáveis dependentes e o de variáveis independentes (HAIR et al., 2005).

Capítulo 1 –  
Variabilidade química nos  
constituintes voláteis das  
folhas de *Eugenia dysenterica*  
de populações cultivadas e  
silvestres

## 1. OBJETIVO

O presente trabalho buscou estudar a variabilidade no conteúdo dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* de populações silvestres e cultivadas oriundas das cidades de Campo Alegre de Goiás/GO e Senador Canedo/GO.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Material botânico

Folhas de *E. dysenterica* foram coletadas de populações silvestres de Campo Alegre de Goiás (CA) (S 17°36'13", W 47°43'13", 831 m) e Senador Canedo (SC) (S 16°37'7", W 49°4'26", 904 m) em agosto de 2006. As folhas de espécimes cultivadas em quadruplicata, provenientes das mesmas populações silvestres, foram coletadas na Escola de Agronomia/UFG (S 16°35'385", W 49°17'23", 716m), a partir de indivíduos com doze anos de idade (cultivados em quadruplicata) em julho de 2006. No total foram coletadas amostras de folha de 82 indivíduos dos quais 13 foram de indivíduos silvestres. As folhas foram dessecadas à temperatura ambiente (30°C), durante sete dias, e submetidas à extração dos óleos essenciais.

### 2.2. Extração dos óleos essenciais

Aproximadamente 50g de folhas dessecadas foram trituradas em moinho de faca com granulação definida (10 mesh) e submetidas à extração por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado por 3 horas. O óleo essencial foi coletado, seco em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, acondicionado em frascos de vidro âmbar e armazenado em freezer (-18°C) até serem analisados.

### 2.3. Análise química dos óleos essenciais

Amostras dos óleos essenciais foram submetidas a uma análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria quadrupolar de massas (CG/EM) em um equipamento Shimadzu, modelo QP505A, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (CBP-5; 30 m de comprimento x 0.25 mm de diâmetro interno x 0.25 µm de espessura do filme de 5% de fenilmetilpolisiloxano), mantendo-se uma

vazão de 1 mL/min de Hélio, como gás de arraste; temperatura do injetor a 220°C e interface a 240°C e aquecimento com temperatura programada (60°C a 246°C, com um gradiente de 3°C/min; em seguida, a 10°C/min até 260°C, mantendo-se uma isoterma de 1,6 min, com um tempo total de 65 min). O volume de injeção das amostras foi de 0,4 µL diluídas em hexano (~10% p/v), com uma razão de split de 1:20. A análise foi conduzida no modo varredura, com a energia de ionização de 70 eV; intervalo de massa de 40-400 m/z e a uma velocidade de 1,0 scan/s.

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada por comparação dos espectros de massa e índice de retenção com os da literatura (ADAMS, 2007), além da busca (automática e manual) dos espectros de massas com àqueles das bibliotecas NIST/EPA/NIH (1998). Os índices de retenção foram calculados através da co-injeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C<sub>8</sub>-C<sub>32</sub> (Sigma, USA), e com a aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (1963). A análise quantitativa foi efetuada pela integração do Cromatograma Total de Íons (TIC).

#### **2.4. Dados edafo-climáticos**

Amostras de solo foram coletadas em uma profundidade de 0-20 e 20-40 cm em cada localidade (SILVA, 1999a). Essas amostras foram secas ao ar, misturadas e peneiradas (2 mm). A porção mais fina (< 2 mm) foi mantida para a análise físico-química (SILVA, 1999b). O pH foi determinado em um volume de água-solo na razão 1:1. Ca, Mg e Al foram extraídos com KCl 1 mol/L, e P, K, Zn, Cu, Fe, Mn, Mo foram extraídos com solução Mehlich. A matéria orgânica, capacidade de troca catiônica (CTC), potencial de acidez (H + Al), saturação por bases, saturação de Al, e textura do solo foram determinadas através da aplicação dos métodos habituais (SILVA, 1999b).

A média de valores mensais de temperatura e precipitação foi obtida a partir das estações climatológicas da UFG (amostras cultivadas) e do Instituto Nacional de Meteorologia-INMET (amostras silvestres). Os registros climatológicos e os dados físico-químicos médios de profundidade do solo foram organizados em

uma matriz com 19 variáveis para cada sítio de amostragem e representou uma matriz de dados edafo-climáticos (ambiental).

## 2.5. Análise estatística

Os programas estatísticos utilizados foram o *Système Portable d'Analyse des Données Numériques* (SPAD.N, versão 2.5 PC/ 1994) do Centre International de Statistique et d'Informatique Appliquées-CISIA, Saint-Mandé/França (LEBART et al., 1994) e o Sistema de Análise Estatística/SAS, Cary, NC (1996).

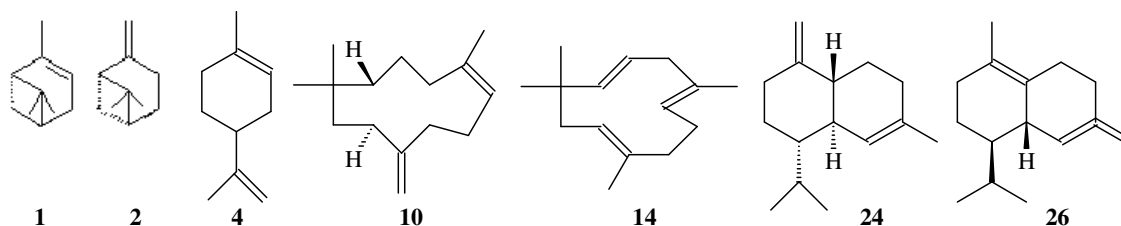
A Análise de Componentes Principais (PCA) foi aplicada para examinar a relação entre os indivíduos e os constituintes químicos, enquanto a Análise por Agrupamento para a similaridade entre os indivíduos com base na distribuição desses constituintes. Todos os dados foram previamente centrados e reduzidos. A técnica do Vizinho mais Próximo pelo algoritmo de Benzécri (1980) foi utilizada como índice de similaridade e o grupamento hierárquico foi efetuado de acordo com o método de minimização da variância descrito por Ward (1963).

A correlação entre o conjunto das variáveis do óleo essencial e dos dados edafo-climáticos foi obtida por meio de Análise de Correlação Canônica no procedimento SAS CANCOR. Para a validação dos resultados, utilizou-se a análise de redundância com os coeficientes normalizados. A Análise de Discriminante Canônico foi utilizada para avaliação do poder discriminante das variáveis nas classes geradas a partir da análise de agrupamentos. A técnica de validação-cruzada foi utilizada para validar as funções discriminantes.

A Análise de variância (ANOVA), com o local e a população como fatores, foi utilizada na comparação das médias de cada constituinte químico volátil e do rendimento dos óleos essenciais usando o procedimento SAS GLM. A homocedasticidade das variâncias foi verificada pelo teste de Hartley. Assim, **9**, **10**, **24**, **27-29**, monoterpenos e hidrocarbonetos monoterpênicos foram transformados pelo arcoseno, enquanto **3**, **4**, **12** e **26** pela ordem dos mesmos. Onde as diferenças entre as médias foram estabelecidas, aplicou-se o teste de Tukey para comparação entre as médias. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais de 82 espécimes de *E. dysenterica* conduziram a identificação de 29 constituintes químicos (Apêndice 4), sendo oito monoterpenos e 21 sesquiterpenos. Dentre os compostos majoritários estão os monoterpenos  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno e os sesquiterpenos  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno,  $\gamma$ -cadineno e  $\delta$ -cadineno (Figura 3).



**Figura 3** - Constituintes químicos majoritários do óleo essencial de *E. dysenterica*. **1:**  $\alpha$ -pineno; **2:**  $\beta$ -pineno; **4:** limoneno; **10:**  $\beta$ -cariofileno; **14:**  $\alpha$ -humuleno; **24:**  $\gamma$ -cadineno; **26:**  $\delta$ -cadineno.

As 82 amostras de folhas analisadas corresponderam a 31 indivíduos, cujas amostragens foram realizadas em duplicata (em alguns casos em triplicata), cujo valor médio de cada constituinte químico encontram-se no Apêndice 1. O rendimento dos óleos essenciais das amostras cultivadas foi maior do que o das amostras silvestres, mas não ocorreu diferença significativa nos teores dos óleos essenciais em relação aos locais de coletas (Tabela 2).

Diferenças quantitativas importantes entre os principais constituintes químicos foram encontradas em função da população e do sítio de amostragem, como  $\gamma$ -cadineno e óxido de cariofileno, e  $\delta$ -cadineno que tiveram o maior percentual nas amostras silvestres de SC e CA, respectivamente, enquanto que  $\alpha$ -copaeno ocorreu em teores elevados em amostras procedentes de CA, independentemente da população silvestre ou cultivada. Diferenças químicas também foram observadas quanto aos sítios de amostragem como  $\beta$ -pineno, limoneno, monoterpenos totais e monoterpenos oxigenados, com uma percentagem mais alta nas amostras de SC, enquanto  $\alpha$ -humuleno, sesquiterpenos totais, hidrocarbonetos sesquiterpênicos e os sesquiterpenos

oxigenados apresentaram uma quantidade elevada em amostras de CA, independentemente das populações. Por outro lado, apesar da elevada percentagem de  $\beta$ -cariofileno e  $\beta$ -pineno, esses constituintes não apresentam diferenças significativas entre as populações e/ou local origem (Tabela 2).

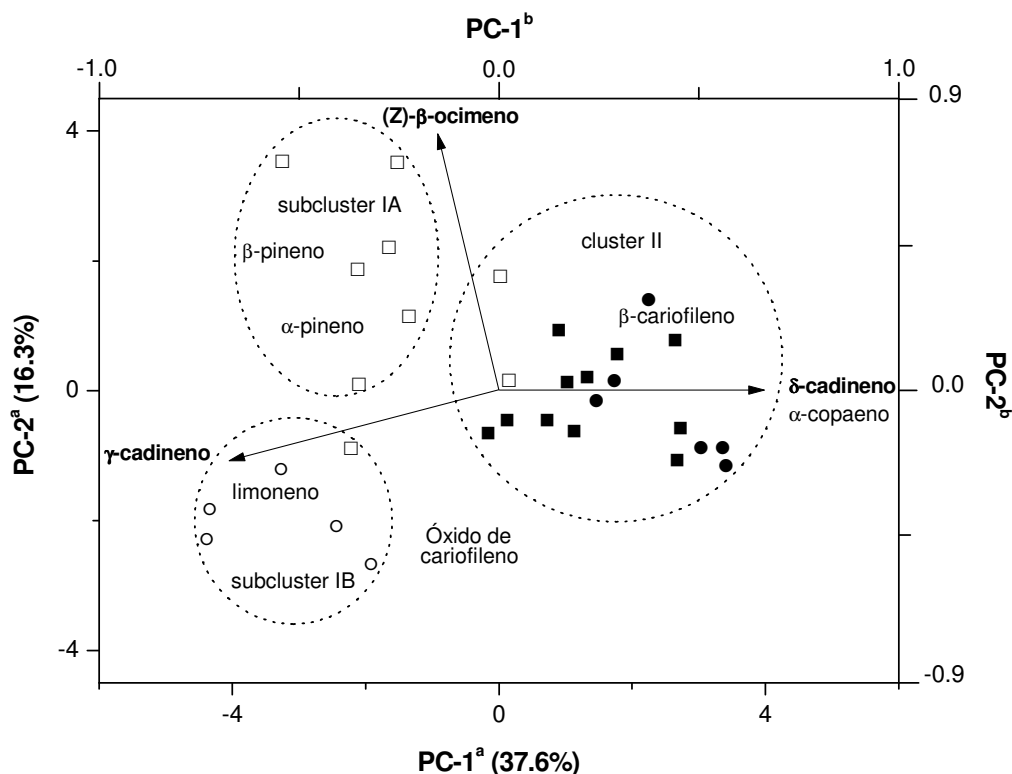
**Tabela 2** - Porcentagem<sup>a</sup> dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* silvestres e cultivadas coletadas em duas regiões do Cerrado/GO.

Constituinte	IR <sup>b</sup>	População	Local de coleta		Média
			SC	CA	
1 $\alpha$ -Pineno	933	Silvestre	7,1	4,5	5.6 A
		Cultivada	8,2	7,3	7.7 A
		Média	7,8 a	6,3 a	
2 $\beta$ -Pineno	978	Silvestre	6,0	3,4	4.6 A
		Cultivada	8,3	4,0	5.9 A
		Média	7,5 a	3,8 b	
3 Mirceno	989	Silvestre	2,6	0,80	1.6 A
		Cultivada	2,1	0,59	1.3 A
		Média	2,3 a	0,67 a	
4 Limoneno	1024	Silvestre	14	1,3	7.2 A
		Cultivada	5,3	1,8	3.8 A
		Média	9,1 a	1,7 b	
5 (Z)- $\beta$ -Ocimeno	1028	<b>Silvestre</b>	-	<b>2,4 A</b>	
		<b>Cultivada</b>	<b>4,6 a</b>	<b>2,3 Aa</b>	
6 (E)- $\beta$ -Ocimeno	1045	Silvestre	-	0,59 A	
		Cultivada	1,6 a	0,45 Ab	
7 Linalool	1095	Silvestre	-	0,49 A	
		Cultivada	0,52 a	0,29 Ab	
8 $\alpha$ -Terpineol	1186	Silvestre	0,12	0,43	0.29 B
		Cultivada	0,44	0,98	0.73 A
		Média	0,32 b	0,78 a	
9 $\alpha$ -Copaeno	1374	Silvestre	0,16 Bb	12 Aa	
		Cultivada	2,9 Ab	9,1 Aa	
10 $\beta$ -Cariofileno	1421	Silvestre	15	22	19 A
		Cultivada	22	22	22 A
		Média	20 a	23 a	
11 $\alpha$ -Guaieno	1439	Silvestre	-	1,5 A	
		Cultivada	1,1 a	1,5 Aa	
12 6,9-Guaiadieno	1445	Silvestre	1,0 A	-	
		Cultivada	1,3 Aa	0,27 b	
13 $\alpha$ -neo-Cloveno	1451	Silvestre	3,0 A	-	
		Cultivada	1,8 Aa	0,52 b	
14 $\alpha$ -Humuleno	1458	Silvestre	7,3	15	12 A
		Cultivada	8,9	13	11 A
		Média	8,3 b	14 a	
15 $\gamma$ -Muuroleno	1476	Silvestre	0,40	0,77	0.60 A
		Cultivada	0,42	0,74	0.60 A
		Média	0,41 b	0,75 a	
16 Biclogermacreno	1481	Silvestre	-	-	
		Cultivada	0,02	-	

Constituinte	IR <sup>b</sup>	População	Local de coleta		Média
			SC	CA	
17 $\alpha$ -Amorfeno	1487	Silvestre	-	0,42 A	
		Cultivada	0,54 a	0,52 Aa	
18 $\beta$ -Selineno	1491	Silvestre	-	-	
		Cultivada	2,1 a	3,2 a	
19 $\delta$ -Selineno	1496	Silvestre	-	- A	
		Cultivada	1,5 a	3,1 Aa	
20 $\alpha$ -Selineno	1502	Silvestre	-	0,48	
		Cultivada	0,56	0,65	
21 $\alpha$ -Muuroleno	1505	Silvestre	-	0,60 A	
		Cultivada	1,8	0,60 A	
22 $\alpha$ -Bulneseno	1509	Silvestre	-	2,0 A	
		Cultivada	1,3 a	1,9 Aa	
23 $\delta$ -Amorfeno	1511	Silvestre	-	-	
		Cultivada	0,15	-	
24 $\gamma$ -Cadineno	1513	<b>Silvestre</b>	<b>28 Aa</b>	<b>0,51 Ab</b>	
		<b>Cultivada</b>	<b>11 Ba</b>	<b>0,36 Ab</b>	
25 7- <i>epi</i> - $\alpha$ -Selineno	1520	Silvestre	-	-	
		Cultivada	0,87 a	1,6 a	
26 $\delta$ -Cadineno	1524	<b>Silvestre</b>	<b>1,4 Ab</b>	<b>16 Aa</b>	
		<b>Cultivada</b>	<b>5,2 Bb</b>	<b>13 Ba</b>	
27 Óxido de cariofileno	1583	Silvestre	8,6 Aa	4,8 Aa	
		Cultivada	1,9 Bb	4,5 Ba	
28 Epóxido II de Humuleno	1610	Silvestre	1,3	3,2	2.3 A
		Cultivada	0,55	2,9	1.9 A
		Média	0,87 b	3,0 a	
29 Muurola-4,10(14)-dien-1 $\beta$ -ol	1630	Silvestre	0,35	2,3	1.4 A
		Cultivada	0,56	1,7	1.2 A
		Média	0,48 b	1,9 a	
Monoterpenos		Silvestre	30	14	21 A
		Cultivada	32	18	24 A
		Média	31 a	16 b	
Hidrocarbonetos monoterpênicos		Silvestre	30	13	21 A
		Cultivada	31	17	23 A
		Média	31 a	15 b	
Monoterpenos oxigenados		Silvestre	0,13	0,92	0.56 B
		Cultivada	0,95	1,3	1.1 A
		Média	0,66 b	1,2 a	
Sesquiterpenos		Silvestre	67	73	66 A
		Cultivada	66	83	66 A
		Média	66 b	78 a	
hidrocarbonetos sesquiterpênicos		Silvestre	57	80	76 A
		Cultivada	62	69	72 A
		Média	61 b	70 a	
Sesquiterpenos oxigenados		Silvestre	10	10	10 A
		Cultivada	3,1	9,1	6.4 A
		Média	5,7 a	9,5 a	
Rendimento (% p/p)		Silvestre	0,25 Ba	0,25 Ba	
		Cultivada	0,55 Aa	0,49 Aa	

<sup>a</sup>Baseadas nos dados originais. <sup>b</sup>Índice de Retenção. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e letras minúsculas nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Os dados percentuais dos constituintes químicos dos óleos essenciais quando submetidos à análise de Componentes Principais (PCA) resultaram em uma percentagem de informação retida de 37,6% na primeira PC e de 16,3% na segunda PC dos dados originais. O gráfico (Figura 4) gerado pelo primeiro plano fatorial revela que a PC-1 separou, principalmente, as amostras de acordo com o local de coleta, enquanto que a PC-2 discriminou as amostras silvestres provenientes de SC.



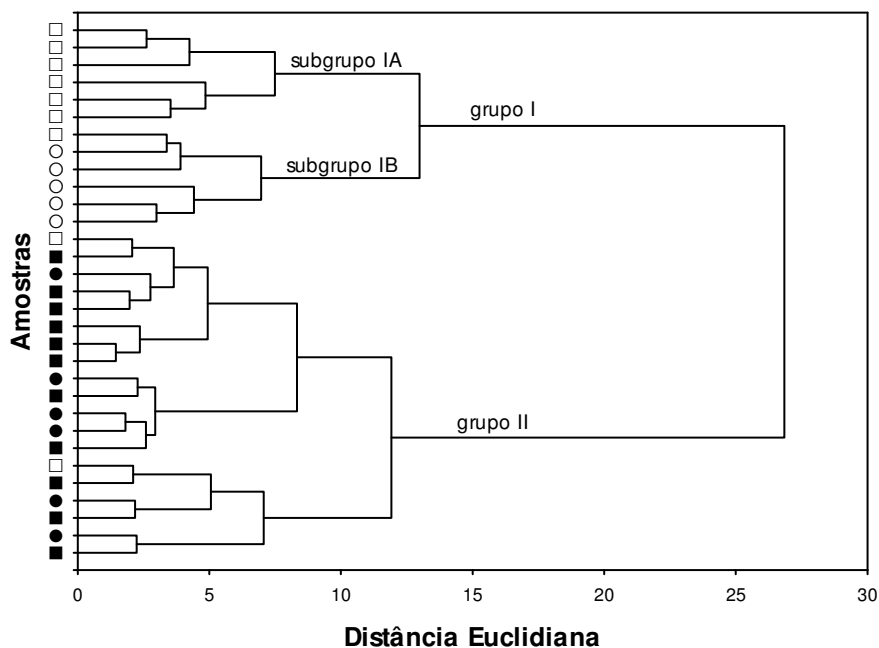
**Figura 4-** Distribuição dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* provenientes de SC (símbolos vazios) e CA (símbolos sombreados) de populações silvestres (círculos) e cultivadas (quadrados). <sup>a</sup>Eixos referentes aos escores das amostras. <sup>b</sup>Eixos referentes aos escores dos constituintes químicos dos óleos essenciais, com os constituintes discriminantes representados por vetores a partir da origem. Os valores percentuais entre parênteses fornecem a variância representada em cada Componente Principal.



Alegre de Goiás (CA) destacadas na Figura 5 estão passando por este processo de diferenciação genética.

A variabilidade na composição química dos óleos essenciais dos indivíduos coletados na região de CA e de SC mostrou estar relacionada às variações genéticas sofridas por esses indivíduos separados pela bacia do Rio Corumbá. A Análise revela, ainda, que os indivíduos cultivados mantiveram as características genéticas das populações silvestres, pois o conteúdo do óleo não sofreu uma alteração significativa. Apenas com relação à população de Senador Canedo foi observada, segundo a PCA, que existe diferença entre os indivíduos silvestres e cultivados. Neste caso, revelando uma influência do ambiente na composição química do óleo essencial dos indivíduos de SC.

A análise de agrupamento confirmou os resultados da PCA e conduziu a dois grupos principais, um formado de amostras oriundas de SC (subgrupos IA/IB) e outro proveniente majoritariamente de CA (grupo II) (Figura 6).



**Figura 6** - Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos de 31 amostras de *E. dysenterica*. O grupo I representa amostras de Senador Canedo/GO (símbolos vazios) e o grupo II as amostras oriundas de Campo Alegre de Goiás/GO (símbolos sombreados). Os círculos reaperentam as populações silvestres e os quadrados as cultivadas.

O subgrupo IA, constituído da maioria das amostras cultivadas de SC, caracterizou-se pelas quantidades elevadas de  $\beta$ -pineno (valores de médias  $\pm$  desvio padrão) ( $9,3 \pm 2,6\%$ ) ( $p < 0,001$ ),  $\alpha$ -pineno ( $9,0 \pm 2,3\%$ ) ( $p < 0,045$ ), (Z)- $\beta$ -ocimeno ( $5,9 \pm 2,6\%$ ) ( $p < 0,006$ ),  $\alpha$ -muuroleno ( $2,6 \pm 2,3\%$ ) ( $p < 0,0001$ ) e (E)- $\beta$ -ocimeno ( $2,0 \pm 0,9\%$ ) ( $p < 0,0001$ ), enquanto que o subgrupo IB (amostras silvestres de SC) caracterizou-se por teores elevados de  $\gamma$ -cadineno ( $27 \pm 8\%$ ) ( $p < 0,0001$ ), limoneno ( $12 \pm 9\%$ ) ( $p < 0,001$ ), óxido de cariofileno ( $7,4 \pm 4,7\%$ ) ( $p < 0,016$ ) e  $\alpha$ -neo-clovene ( $3,1 \pm 0,6\%$ ) ( $p < 0,001$ ); grupo II, contendo as amostras de CA, independentemente da população, apresentou teores elevados de  $\beta$ -cariofileno ( $24 \pm 8\%$ ) ( $p < 0,007$ ),  $\delta$ -cadineno ( $13 \pm 4\%$ ) ( $p < 0,0001$ ),  $\alpha$ -copaeno ( $9,6 \pm 3,2\%$ ) ( $p < 0,0001$ ) e muurola-4,10(14)-dien-1 $\beta$ -ol ( $1,8 \pm 1,1\%$ ) ( $p < 0,001$ ).

$\delta$ -Cadinene,  $\gamma$ -cadineno e (Z)- $\beta$ -ocimeno foram selecionadas como variáveis preditoras para a análise de discriminante canônico (Figura 7). A primeira função discriminante (F1) foi responsável por 95,4% do total da variabilidade e separou as amostras silvestres de SC ( $F = 28,8$ ;  $GL = 6$  e  $52$ ;  $p < 0,0001$ ), devido a forte contribuição de  $\gamma$ -cadineno (subgrupo IB), enquanto a segunda função discriminante (F2) separou as amostras cultivadas de SC das de CA, independentemente das populações ( $F = 7,3$ ;  $GL = 2$  e  $27$ ;  $p < 0,0001$ ), como resultado das contribuições de (Z)- $\beta$ -ocimeno e  $\delta$ -cadinene, respectivamente (Tabela 3). A percentagem de classificação correta pelo método de validação-cruzada foi de 98% e a única amostra mal classificada pertencia originalmente à população de SC, embora tenha sido agrupada em II e que devido ao teor reduzido de  $\delta$ -cadineno foi classificada como pertencente a amostras cultivadas de SC.

**Tabela 3** - Resumo da análise de discriminante canônico do óleo das folhas de *E. dysenterica*.

A. Funções canônicas	Autovalor	Porcentagem relativa	Correlação canônica	Lâmbda de Wilks	F	GL	P
F1	11,140	95,4	0,958	0,053	28,8	6; 52	0,0001
F2	0,541	4,6	0,593	0,649	7,3	2; 27	0,0001

B, Coeficientes padronizados	(Z)- $\beta$ -Ocimeno	$\gamma$ -Cadineno	$\delta$ -Cadineno
F1	0,27	-0,96	0,22
F2	0,77	-0,20	-0,63

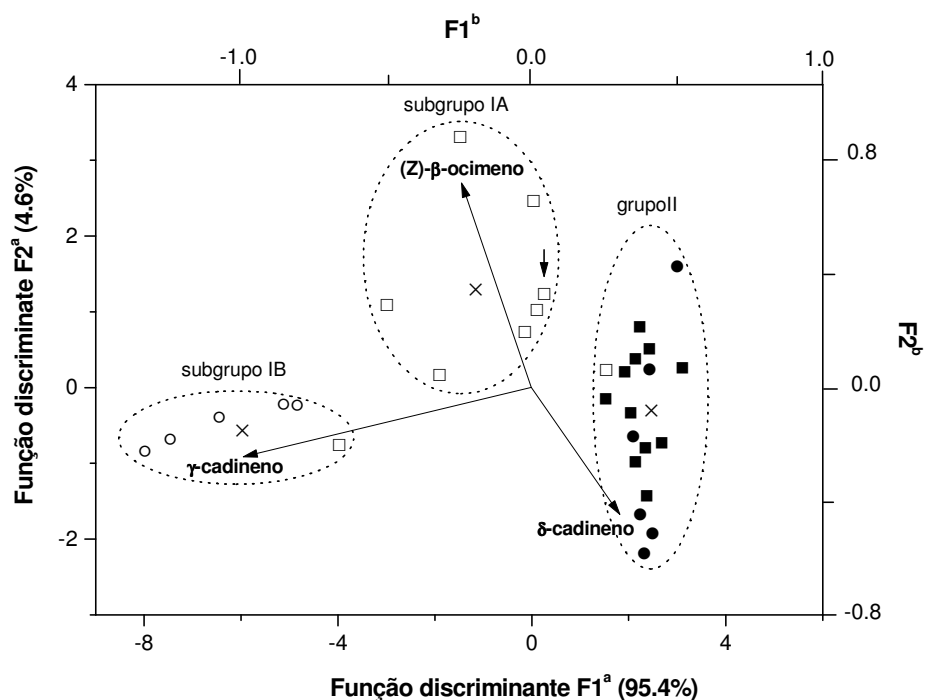
  

C, Escores canônicos das médias dos clusters	Subgrupo IA	Subgrupo IB	Grupo II
F1	-0,94	-5,99	2,19
F2	1,41	-0,54	-0,28

D, Validação cruzada	Porcentagem total de classificação correta			
	Subgrupo IA	Subgrupo IB	Grupo II	Total
	100	100	94,7	98,2

Número de amostras = 31; variáveis discriminantes: (Z)- $\beta$ -ocimeno,  $\gamma$ -cadineno e  $\delta$ -cadineno.



**Figura 7** - Gráfico das funções de discriminante canônicas de amostras de *E. dysenterica* de SC (símbolos vazios) CA (símbolos sombreados) de populações silvestres (círculos) e cultivadas (quadrados). <sup>a</sup>Eixos referentes aos escores das amostras. <sup>b</sup>Eixos referentes aos escores das variáveis preditoras representadas como vetores a partir da origem. A seta indica a amostra mal classificada. As cruzes representam os centróides dos grupos e os valores entre parênteses referem-se a variância explicada em cada eixo discriminante.

De fato, o conteúdo dos óleos essenciais sofre influência tanto de fatores do ambiente em que as plantas se encontram quanto de fatores genéticos. Loziene e Venskutonis (2005) estudaram a influência desses dois fatores na variabilidade do óleo essencial de *Thymus pulegioides* L. (Lamiaceae) coletados em vários habitats da Lituânia e cultivados sob condições idênticas. Os resultados indicaram a presença de cinco quimiotipos e que embora as amostras tenham sido clonadas anualmente, resultaram em uma composição química estável em seus óleos essenciais, ou seja, o conteúdo permaneceu quase inalterado quando cultivada em um outro ambiente, sugerindo a predominância de uma influência genética. Outros estudos confirmaram esta tendência de controle genético, como aqueles efetuados por Fracaro & Echeverrigaray (2001) com *Cunila galioides* Benth. (Lamiaceae) do Sul do Brasil. Quando a planta foi retirada do seu habitat natural e cultivada em outra região a composição do óleo essencial exibiu as mesmas características da população original.

Como outras características fenotípicas, a composição do óleo essencial de uma planta é determinada geneticamente e também como nos animais, estas características podem sofrer influência de fatores ambientais. Para que se possa avaliar qual fator, se genético ou ambiental, predomina na determinação do conteúdo do óleo essencial, Barazani et al. (2002) enfatizaram a importância da análise comparativa entre populações silvestres e cultivadas. De fato, os resultados da variabilidade química dos óleos essenciais de *E. dysenterica* foram similares aos observados por esses autores que estudaram a diferenciação entre populações de *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill. (Apiaceae) com amostras silvestres e cultivadas em uma região uniforme. Dois grupos foram observados, um constituído por indivíduos com alta hereditariedade química e o outro com baixa hereditariedade e, portanto, sob um maior controle ambiental.

De forma geral há um consenso de que a composição dos óleos essenciais é determinada geneticamente e que pode sofrer influências do ambiente, como mostram os estudos de Mumm et al. (2004) com *Pinus nigra* Arnold (Pinaceae), que tem seu conteúdo de voláteis alterados pela influência de herbivoria. No entanto, a discussão atual refere-se mais a que ponto os fatores ambientais

conseguem modificar esta composição e qual seria o limite de sua influência para que a mudança fosse sentida pelas gerações seguintes.

Para Lee et al. (2002) uma maneira de estabelecer uma distinção entre os efeitos genéticos e do ambiente sobre a composição dos óleos essenciais de uma planta é o cultivo em um mesmo ambiente. Eles identificaram a composição do óleo essencial de populações naturais de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel (Myrtaceae) de diferentes regiões da Austrália. Em uma população geograficamente isolada foram identificados vários quimiotipos. Porém, estudos com espécies da mesma região mostraram uma baixa variabilidade genética nas populações. Este fato coloca em questionamento o uso da variação de terpenos como uma medida de diversidade entre as plantas.

Os estudos com *E. dysenterica* sugerem, ambos, um controle preponderantemente genético entre amostras provenientes dos sítios de amostragem (SC versus CA) e também de uma forte influência ambiental sobre as amostras provenientes apenas de SC.

A Análise de Correlação Canônica entre os constituintes químicos dos óleos essenciais (conjunto I) e os dados edafo-climáticos (conjunto II) revelou que limoneno,  $\gamma$ -cadineno e óxido de cariofileno correlacionam-se fortemente às variáveis do solo Zn, Cu, Fe, Mn e com o clima mais quente e úmido. Essas condições estão relacionadas aos indivíduos silvestres de SC (subgrupo IB). Além disso,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno e (Z)- $\beta$ -ocimeno correlacionam-se com teores elevados de P, e encontram-se relacionadas aos indivíduos cultivados de SC (subgrupo IA) e de CA (grupo II), independentemente do tipo de população (Tabela 4).

Esses resultados foram semelhantes aos observados pela adição de micronutrientes ao solo, o qual mostrou influência significativa sobre o rendimento e o conteúdo do óleo essencial extraídos das folhas de *Cistus monspeliensis* L. (Cistaceae) e de *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) (ROBLES & GARZINO, 2000; SRIVASTAVA et al., 2002). Por outro lado, a correlação positiva do óxido de cariofileno e negativa do  $\beta$ -cariofileno com os íons metálicos estão de acordo com os efeitos observados por El-Sawi & Mohamed (2002) na avaliação de diferentes

dosagens dos micronutrientes Zn e Mn quando aplicadas ao cumim (*Cuminum cyminum* L.; Apiaceae). Os efeitos dos micronutrientes na biossíntese desses terpenos indicaram a importância e a necessidade de um cofator metálico divalente pela enzima sesquiterpeno sintase (PICAUD et al., 2005).

Foi demonstrado que o íon  $Mn^{2+}$  promove a formação do  $\gamma$ -humuleno, enquanto a quantidade de outros terpenos é reduzida (PICAUD et al., 2005). Em pimenta, o único subproduto ( $\delta$ -cadineno) produzido pela enzima (E)- $\beta$ -farneseno sintase, na presença de  $Mg^{2+}$ , foi completamente ausente na presença dos íons  $Mn^{2+}$  (CROCK et al., 1997), resultado similar ao efeito observado na Tabela 4, onde a diminuição do  $\delta$ -cadineno está correlacionada com o aumento de  $Mn^{2+}$ .

O fósforo, por sua vez, é um elemento essencial para o crescimento da planta, sendo componente de compostos fosfatados que encerram energia (ATP e ADP), ácidos nucleicos, várias coenzimas e fosfolipídeos, e participando também de várias etapas na rota biossintética dos terpenos (RAVEN, 2001). Estudos com *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) (DAVID et al., 2006), mostraram a influência marcante dos níveis de fósforo no conteúdo e rendimento do óleo essencial desta espécie. Nas amostras de *E. dysenterica* silvestres, coletadas no máximo da estação seca, foi observada uma forte correlação com o teor de fósforo no solo. Durante este período ocorre a emissão de novas folhas o que exige grandes quantidades de carbono e macronutrientes, especialmente N e P para as proteínas e RNA (SANO et al., 1995) e favorecendo a capacidade de biossíntese de óleos essenciais como fator de proteção ao aumento de herbivoria nesta época.

**Tabela 4** - Sumário da Análise de correlação canônica dos constituintes dos óleos essenciais de *Eugenia dysenterica* e dos dados edafoclimáticos.

Constituintes químicos (%) (conjunto 1)	Coefficiente Canônico V1	Fatores Edafo-climáticos (conjunto 2)	Coefficiente Canônico W1
<b>4</b> Limoneno	-0,6804	Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	-0,9344
<b>5</b> (Z)-β-Ocimeno	0,3448	Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	-0,9393
<b>9</b> α-Copaeno	0,5899	Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	-0,4147
<b>10</b> β-Cariofileno	0,3696	Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	-0,7043
<b>14</b> α-Humuleno	0,2484	P (mg dm <sup>-3</sup> )	0,7441
<b>24</b> γ-Cadineno	-0,8822	Temperatura (°C)	-0,9024
<b>26</b> δ-Cadineno	0,5933	Precipitação (mm)	-0,7874
<b>27</b> Óxido de cariofileno	-0,5246		
Autovalor			0,8899
Correlação canônica			0,9433
Lâmbda de Wilks			0,0299
χ <sup>2</sup> de Bartlett			77,201
Graus de liberdade			56
P			0,0317
Variância acumulda (%):			
dos constituintes químicos do óleo essencial			28,2
da relação constituintes químicos do óleo essencial-edafoclimático			56,1

#### 4. CONCLUSÃO

A variabilidade na composição química dos óleos essenciais das amostras de *E. dysenterica* entre os locais de amostragem mostrou ser devido a diferenças genéticas, apresentando dois quimiotipos (SC e CA). O estudo revelou também a existência de influências marcantes do ambiente na composição dos óleos essenciais apenas na população de SC, caracterizando-se como ecótipos.

Capítulo 2 –  
Variação sazonal nos  
constituintes voláteis das  
folhas de *E. dysenterica*

## 1. OBJETIVO

O presente trabalho buscou estudar a influência das estações seca e chuvosa na variabilidade da composição química dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* de amostras provenientes de Campo Alegre de Goiás/GO e Senador Canedo/GO, cultivadas sob condições idênticas.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Material botânico

*E. dysenterica* provenientes de duas populações silvestres (CA e SC) foram cultivadas em quadruplicata na Escola de Agronomia/UFG (S 16°35'38,5", W 49°17'23", 716m). As folhas foram coletadas de 69 indivíduos na estação seca (julho/2006) e de 28 indivíduos na estação chuvosa (Abril/2007). Todos os indivíduos tinham a mesma idade (12 anos) e as amostras coletadas de todos os quadrantes. As folhas foram dessecadas à temperatura ambiente (30°C), durante sete dias, e submetidas à extração dos óleos essenciais.

As médias dos valores mensais de temperatura e precipitação foram obtidas a partir da estação climatológica da UFG. Os valores médios de máximos e mínimos de temperatura (°C) para os meses de julho/2006 e abril/2007 foram de  $30,0 \pm 2,5$ ;  $9,9 \pm 1,7$  (média  $19,3 \pm 1,7$ ) e  $32,0 \pm 1,5$ ;  $16,3 \pm 1,1$  (média  $23,2 \pm 0,9$ ), respectivamente. A média da umidade relativa do ar e o total de precipitação nesses meses foram de  $83,1 \pm 4,2\%$  e 0,0 mm;  $81,7 \pm 3,5\%$ , 129,5 mm, respectivamente. O procedimento de correlação canônica foi aplicado para os conjuntos de dados relativos aos constituintes químicos do óleo essencial e as variáveis climáticas.

### 2.2. Extração dos óleos essenciais

As folhas dessecadas foram trituradas em moinho de faca com granulação definida (10 mesh) e submetidas a extração por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado por 3 horas. O óleo essencial foi coletado, seco em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, acondicionado em frascos de vidro âmbar e armazenado em freezer (-18°C) até serem analisados.

### 2.3. Análise química dos óleos essenciais

Amostras dos óleos essenciais foram submetidas a uma análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria quadrupolar de massas (CG/EM) em um equipamento Shimadzu, modelo QP505A, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (CBP-5; 30 m de comprimento x 0.25 mm de diâmetro interno x 0.25 µm de espessura do filme de 5% de fenilmetilpolisiloxano), mantendo-se uma vazão de 1mL/min de Hélio, como gás de arraste; temperatura do injetor a 220°C e interface a 240°C e aquecimento com temperatura programada (60°C a 246°C, com um gradiente de 3°C/min; em seguida, a 10°C/min até 260°C, mantendo-se uma isoterma de 1,6 min, com um tempo total de 65 min). O volume de injeção das amostras foi de 0,4 µL diluídas em hexano (~10% p/v), com uma razão de split de 1:20. A análise foi conduzida no modo varredura, com a energia de ionização de 70 eV; intervalo de massa de 40-400 m/z e a uma velocidade de 1,0 scan/s.

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada por comparação dos espectros de massa e índice de retenção com os da literatura (ADAMS, 2007), além da busca (automática e manual) dos espectros de massas com àqueles das bibliotecas NIST/EPA/NIH (1998). Os índices de retenção foram calculados através da co-injeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C<sub>8</sub>-C<sub>32</sub> (Sigma, USA), e com a aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (1963). A análise quantitativa foi efetuada pela integração do Cromatograma Total de Íons (TIC).

### 2.4. Análise estatística

Os programas estatísticos utilizados foram o Système Portable d'Analyse des Données Numériques (SPAD.N, versão 2.5 PC/ 1994) do Centre International de Statistique et d'Informatique Appliquées-CISIA, Saint-Mandé/França (LEBART et al., 1994) e o Sistema de Análise Estatística/SAS, Cary, NC (1996).

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi aplicada para examinar a relação entre os indivíduos e os constituintes químicos dos óleos essenciais. A Análise por Agrupamento foi aplicada para o estudo da similaridade entre os indivíduos (espécimes) com base na distribuição dos constituintes dos óleos

essenciais. Todos os dados foram submetidos a um pré-tratamento (centrados e reduzidos). A técnica do Vizinho mais Próximo pelo algoritmo de Benzécri (1980) foi utilizada como índice de similaridade, enquanto o grupamento hierárquico foi efetuado de acordo com o método de minimização da variância descrito por Ward (1963).

A correlação entre o conjunto das variáveis do óleo essencial e dos dados climáticos foi obtida por meio de Análise de Correlação Canônica no procedimento SAS CANCOR. Para a validação dos resultados, utilizou-se a análise de redundância com os coeficientes normalizados.

A Análise de Discriminante Canônico foi utilizada para avaliação do poder discriminante das variáveis nas classes geradas a partir da análise de agrupamentos. A técnica de validação-cruzada foi utilizada para validar as funções discriminantes.

A Análise de variância (ANOVA), com o local e a população como fatores, foi utilizada na comparação das médias de cada constituinte químico volátil e do rendimento dos óleos essenciais usando o procedimento SAS GLM. A homoscedasticidade das variâncias foi verificada pelo teste de Hartley. Os constituintes **6, 8, 12, 13, 17, 18, 25, 26, 28** e os sesquiterpenos oxigenados foram transformados pelo arcoseno, enquanto que **2-4, 10, 11, 21, 22**, monoterpenos, hidrocarbonetos monoterpênicos e os sesquiterpenos oxigenados foram transformados pela ordem dos mesmos (rank). Onde as diferenças entre as médias foram estabelecidas, aplicou-se o teste de Tukey para comparação entre as médias. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos. Em alguns casos, os resultados são apresentados como média seguida pelo desvio padrão de duas ou três medidas independentes.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os óleos essenciais de 97 amostras de folhas de *E. dysenterica* conduziram a 29 constituintes químicos identificados (Apêndice 4), sendo 8 monoterpenos e 21 sesquiterpenos. Dentre os compostos majoritários estão os

monoterpenos  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno, e os sesquiterpenos  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno,  $\gamma$ -cadineno e  $\delta$ -cadineno. As amostras foram coletadas em duplicata e em alguns casos em triplicata. Assim, a porcentagem dos constituintes químicos foi calculada a partir da média de 47 indivíduos conforme apresentado no Apêndice 2.

Inicialmente, o efeito da estação do ano e da procedência das amostras, o local, foi investigado pela análise de variância (ANOVA) e os resultados encontram-se na Tabela 5. A média de rendimentos dos óleos essenciais das amostras oriundas de SC foram maiores que as provenientes de CA, mas não houve diferença significativa em relação à época de coleta.

Dentre os compostos que tiveram apenas a influência do sítio de origem da amostra estão o  $\beta$ -pineno,  $\gamma$ -cadineno e os valores totais de hidrocarbonetos monoterpênicos, os quais apresentaram maiores teores nos indivíduos de SC.  $\alpha$ -Pineno não apresentou interação entre os fatores (estação/sítio), embora tenha os maiores teores nos indivíduos de SC e durante a estação seca.  $\alpha$ -Copaeno apresentou os maiores teores em amostras oriundas de CA, independentemente da estação. O limoneno apresentou os maiores teores em indivíduos de SC na estação chuvosa e  $\delta$ -cadineno em amostras de CA nas duas estações. Os sesquiterpenos, hidrocarbonetos sesquiterpênicos e  $\beta$ -cariofileno apresentaram as maiores porcentagens em indivíduos provenientes de CA na estação chuvosa. Os monoterpenos oxigenados, por sua vez, apresentaram as maiores porcentagens em amostras de CA na estação seca. O  $\alpha$ -humuleno apesar de representar grande parte do óleo essencial não apresentou diferenças estatísticas significantes entre sítio de amostragem e/ou estação de coleta.

**Tabela 5** - Percentagens<sup>a</sup> dos constituintes do óleo essencial de *E. dysenterica* cultivadas, provenientes de dois sítios de amostragem do Cerrado/GO e coletadas na seca e chuvosa.

Constituintes	IR <sup>b</sup>	Estação	Sítio de amostragem		Média
			SC	CA	
1 $\alpha$ -Pineno	933	Seca	8,2	7,3	7,7 A
		Chuva	7,9	3,8	5,8 B
		Média	8,0 a	5,3 b	
2 $\beta$ -Pineno	978	Seca	8,3	4,0	5,9 A

Constituintes	IR <sup>b</sup>	Estação	Sítio de amostragem		Média
			SC	CA	
3 Mirceno	989	Chuva	8,6	2,9	5,6 A
		Média	8,5 a	3,4 b	
		Seca	2,1	0,59	1,3 A
4 Limoneno	1024	Chuva	2,3	0,83	1,5 A
		Média	2,2 a	0,72 b	
		Seca	6,3 Aa	1,8 Aa	
5 (Z)- $\beta$ -Ocimeno	1028	Chuva	14 Aa	0,94 Bb	
		Seca	4,7	2,3	3,4 A
		Chuva	0,03	2,0	1,1 A
6 (E)- $\beta$ -Ocimeno	1045	Média	1,9 a	2,1 a	
		Seca	1,6	0,46	0,96 A
		Chuva	0,54	0,44	0,49 B
7 Linalool	1095	Média	0,96 a	0,45 b	
		Seca	0,52	0,29	0,39 A
		Chuva	0,30	0,17	0,23 A
8 $\alpha$ -Terpineol	1186	Média	0,39 a	0,22 a	
		Seca	0,44	0,97	0,73 A
		Chuva	0,06	0,23	0,15 B
9 $\alpha$ -Copaeno	1374	Média	0,21 b	0,56 a	
		Seca	2,8	9,1	6,3 A
		Chuva	0,03	8,4	4,4 A
10 $\beta$ -Cariofileno	1420	Média	1,2 b	8,7 a	
		Seca	22 Aa	22 Aa	
		Chuva	24 Ab	37 Ba	
11 $\alpha$ -Guaieno	1439	Seca	1,1	1,5	1,3 A
		Chuva	0,17	1,0	0,60 B
		Média	0,54 a	1,2 a	
12 6,9-Guaiadieno	1445	Seca	1,3	0,26	0,73 A
		Chuva	1,2	0,44	0,80 A
		Média	1,2 a	0,36 b	
13 $\alpha$ - <i>neo</i> -Clove	1451	Seca	1,8	0,51	1,1 A
		Chuva	3,0	0,54	1,7 A
		Média	2,5 a	0,53 b	
14 $\alpha$ -Humuleno	1458	Seca	8,9	13	11 A
		Chuva	8,5	13	11 A
		Média	8,6 a	13 a	
15 $\gamma$ -Muuroleno	1476	Seca	0,42	0,74	0,60 A
		Chuva	0,03	0,66	0,36 A
		Média	0,19 a	0,69 a	
16 $\alpha$ -Amorfen	1481	Seca	0,01	-	0,01
		Chuva	0,27	0,17	0,22
		Média	0,16 a	0,10 a	
17 $\beta$ -Selineno	1487	Seca	0,63	0,52	0,57 A
		Chuva	0,20	0,21	0,20 B
		Média	0,38 a	0,34 a	
18 $\delta$ -Selineno	1491	Seca	2,0	3,1	2,6 A
		Chuva	2,0	-	0,95 A
		Média	2,0 a	1,4 a	
19 $\alpha$ -Selineno	1496	Seca	0,55	0,65	0,61 A
		Chuva	0,37	0,38	0,39 A
		Média	0,44 a	0,50 a	
20 Bicyclogermacreno	1500	Seca	0,56	-	0,25 A
		Chuva	0,09	-	0,04 B

Constituintes	IR <sup>b</sup>	Estação	Sítio de amostragem		Média
			SC	CA	
21 $\alpha$ -Muuroleno	1505	Média	0,28	-	
		Seca	1,8	0,60	1,1 A
		Chuva	-	0,58	0,30 A
22 $\alpha$ -Bulneseno	1509	Média	0,73 a	0,59 a	
		Seca	1,3	1,9	1,6 A
		Chuva	0,18	1,8	1,0 B
23 $\delta$ -Amorfenno	1511	Média	0,62 a	1,9 a	
		Seca	0,14	-	
		Chuva	0,17	-	
24 $\gamma$ -Cadineno	1513	Seca	11	0,36	5,0 A
		Chuva	16	0,73	8,0 A
		Média	14 a	0,56 b	
25 7- <i>epi</i> - $\alpha$ -Selineno	1520	Seca	0,86	1,6	1,3 A
		Chuva	0,71	-	0,3 A
		Média	0,77 a	0,71 a	
26 $\delta$ -Cadineno	1524	Seca	5,2 Ab	13 Aa	
		Chuva	1,6 Bb	14 Aa	
		Média			
27 Óxido de cariofileno	1583	Seca	1,9	4,5	3,3 A
		Chuva	1,8	5,1	3,5 A
		Média	1,8 b	4,8 a	
28 Epóxido II de humuleno	1610	Seca	0,60	2,9	1,9 A
		Chuva	0,42	1,1	0,75 B
		Média	0,49 b	1,9 a	
29 Muurorola-4,10(14)-dien-1 $\beta$ -ol	1630	Seca	0,55	1,7	1,2 A
		Chuva	-	1,4	0,72 A
		Média	0,23 b	1,5 a	
Monoterpenos		Seca	32	18	24 A
		Chuva	33	11	22 B
		Média	33 a	14 b	
Hidrocarbonetos monoterpênicos		Seca	31	16	23 A
		Chuva	33	11	22 A
		Média	32 a	13 b	
Monoterpenos oxigenados		Seca	0,95	1,3	1,1 A
		Chuva	0,36	0,40	0,38 B
		Média	0,60 a	0,78 a	
Sesquiterpenos		Seca	66 Ab	78 Aa	
		Chuva	60 Ab	86 Ba	
		Média			
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		Seca	62 Aa	69 Ba	
		Chuva	58 Ab	78 Aa	
		Média			
Sesquiterpenos oxigenados		Seca	3,1	9,1	6,4 A
		Chuva	2,2	7,5	4,9 A
		Média	2,6 b	8,2 a	
Rendimento (% p/p)		Seca	0,52	0,21	0,37 A
		Chuva	0,61	0,18	0,40 A
		Média	0,57 a	0,20 b	

<sup>a</sup>Baseadas nos dados originais. <sup>b</sup>Índice de Retenção. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e letras minúsculas nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

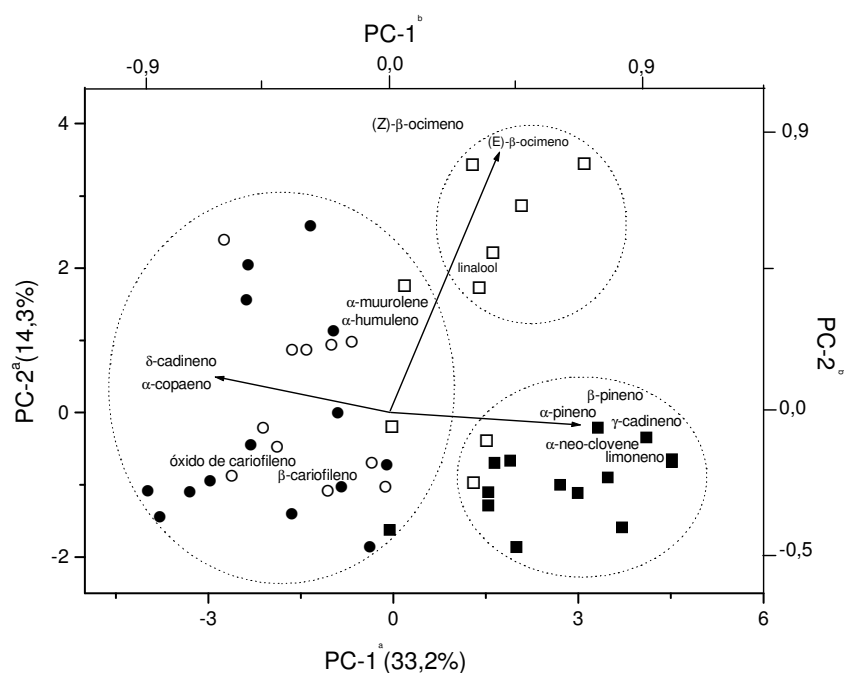
Randrianalijaona et al. (2005) avaliaram a influência da sazonalidade na composição química do óleo essencial de *Lantana camara* L. (Verbenaceae) coletadas em Madagascar e constatou que ao longo do ano a composição permaneceu estável. Entretanto, estudos com os óleos essenciais de folhas e da casca do tronco *Aniba canelilla* (Kunth) Mez. (Lauraceae) (TAVEIRA et al., 2003) demonstraram grande influência da sazonalidade. Dos constituintes majoritários, no período chuvoso, o 1-nitro-2-feniletano atingiu valores próximos de 95%, enquanto metileugenol permaneceu abaixo de 18%. Pelo contrário, no período seco, o 1-nitro-2-feniletano decresceu para 39%, enquanto metileugenol atingiu 45%. De fato, a influência da sazonalidade na composição química dos óleos essenciais varia de acordo com a espécie. De maneira semelhante, os óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbanaceae) (SILVA et al., 2006) sofreram influência de fatores ambientais relacionados a diferentes épocas do ano.

Os dados quantitativos da composição química dos óleos essenciais foram submetidos à análise de Componentes Principais e análise de agrupamento. A percentagem de informação dos dados originais, retida após a PCA, foi de 33,2% na primeira componente principal e de 14,3% na segunda componente principal. O gráfico (Figura 8) gerado pelo primeiro plano fatorial revelou que a PC-1 separou as amostras de acordo com a origem da população silvestre (CA versus SC), enquanto que a PC-2 distinguiu principalmente as amostras de SC coletadas na estação seca. Para os indivíduos de CA, os constituintes químicos que apresentaram maior peso foram  $\alpha$ -copaeno,  $\delta$ -cadineno e  $\beta$ -cariofileno, enquanto que para os indivíduos de SC, coletados na chuva, foram o  $\gamma$ -cadineno e limoneno, e, na seca, o  $\alpha$ -muuroleno, (E)- $\beta$ -ocimeno e (Z)- $\beta$ -ocimeno.

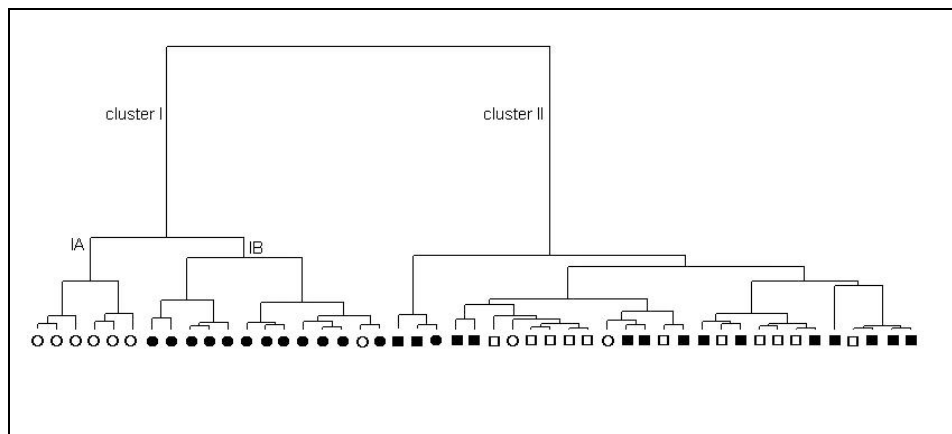
De maneira semelhante ao descrito no capítulo 1 dessa dissertação, *E. dysenterica* mostrou ter uma composição química de seus óleos essenciais influenciada por fatores genéticos (quimiotipos CA e SC), embora podendo sofrer uma influência marcante de fatores ambientais na população oriunda de SC (ecótipo).

A análise de agrupamento resultou em dois principais grupos de amostras de *E. dysenterica*. Um deles (subgrupo IA/IB) contendo indivíduos oriundos de SC e outro (grupo II) com aqueles procedentes de CA (Figura 9).

O subgrupo IA (amostras de SC coletadas na seca) foi caracterizado por ter elevadas quantidades de  $\beta$ -pineno (valores de médias; desvio padrão) ( $9,3 \pm 2,6\%$ ) ( $p < 0,0015$ ),  $\alpha$ -pineno ( $9,0 \pm 2,3\%$ ) ( $p < 0,034$ ), (Z)- $\beta$ -ocimeno ( $5,9 \pm 4,2\%$ ) ( $p < 0,001$ ),  $\alpha$ -muurolene ( $2,6 \pm 2,3\%$ ) ( $p < 0,0001$ ) e (E)- $\beta$ -ocimeno ( $2,0 \pm 0,9\%$ ) ( $p < 0,0001$ ), enquanto que o subgrupo IB, constituído na maioria das amostras de SC coletadas na chuva, caracterizou-se pelos teores elevados de  $\gamma$ -cadineno ( $17 \pm 11\%$ ) ( $p < 0,0001$ ), limoneno ( $14 \pm 9\%$ ) ( $p < 0,0001$ ),  $\beta$ -pineno ( $8,6 \pm 5,4\%$ ) ( $p < 0,003$ ) e  $\alpha$ -neo-clovene ( $3,2 \pm 2,0\%$ ) ( $p < 0,0001$ ).



**Figura 8** - Gráfico da PCA dos óleos essenciais de espécimes cultivadas de *E. dysenterica* de populações silvestres de SC (quadrados) e de CA (círculos), coletadas na estação chuvosa (símbolos sombreados) e na seca (símbolos vazios). <sup>a</sup>Eixos referentes aos escores das amostras. <sup>b</sup>Eixos referentes aos escores dos constituintes químicos, com os discriminantes representados por vetores a partir da origem.



**Figura 9** - Dendrograma representando os agrupamentos hierárquicos de 47 amostras de *E. dysenterica* de acordo com a distância Euclidiana. O grupo I representa amostras de SC (círculos) e o grupo II as oriundas de CA (quadrados). Símbolos sombreados representam as amostras coletadas no período chuvoso e os símbolos vazios, na seca.

Já o grupo II, formado pelas amostras de CA coletadas na seca e na chuva, apresentaram altas quantidades de  $\beta$ -cariofileno ( $32 \pm 15\%$ ) ( $p < 0,001$ ),  $\delta$ -cadineno ( $13 \pm 6\%$ ) ( $p < 0,0001$ ),  $\alpha$ -copaeno ( $8,1 \pm 3,9\%$ ) ( $p < 0,0001$ ), óxido de cariofileno ( $4,7 \pm 4,4\%$ ) ( $p < 0,002$ ) e muuro-la-4,10(14)-dien-1 $\beta$ -ol ( $1,4 \pm 1,2\%$ ) ( $p < 0,0001$ ).

A Análise de discriminante canônico confirmou esses agrupamentos, tendo como variáveis predictoras o  $\delta$ -cadinene,  $\gamma$ -cadineno e (Z)- $\beta$ -ocimeno. A primeira função discriminante respondeu por 87% do total da variabilidade e distinguiu os indivíduos de SC na estação chuvosa (subgrupo IB) e os indivíduos de CA (grupo II), independentemente da estação de coleta ( $F = 18,5$ ;  $GL = 6$  e  $84$ ;  $p < 0,0001$ ), devido aos altos coeficientes positivos e negativos, respectivamente, de  $\delta$ -cadineno e  $\gamma$ -cadineno. Por outro lado, a segunda função discriminante distinguiu a população de SC coletada na seca ( $F = 9,1$ ;  $GL = 2$  e  $43$ ;  $p < 0,0005$ ), como resultado do elevado peso positivo de (Z)- $\beta$ -ocimeno (subgrupo IA). Além disso, com a utilização das duas funções discriminante foi possível prever 87% da classificação original dos grupos (quatro indivíduos mal classificados) por meio do método Jackknife (WOLD & ERIKSSON, 1995).

A análise de correlação canônica (Tabela 6) entre os constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* e os dados climáticos revelou que o  $\alpha$ -

pineno, (Z)- $\beta$ -ocimeno, (E)- $\beta$ -ocimeno, biciclogermacreno, epóxido II de humuleno e os hidrocarbonetos monoterpênicos apresentaram uma forte relação com o clima mais frio e seco (subgrupo IA). Além disso,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -amorfenos e óxido de cariofileno apresentaram forte correlação com o clima mais quente e úmido, que estão relacionados com os indivíduos de CA (grupo II).

**Tabela 6** - Sumário da Análise de correlação canônica dos constituintes químicos dos óleos essenciais de espécimes cultivadas de *E. dysenterica* coletados nas estações chuvosa e seca do Cerrado/GO.

Constituintes Químicos (conjunto 1)	Variável Canônica		Fatores Climáticos (conjunto 2)	Variável Canônica	
	Escore	Peso		Escore	Peso
<b>1</b> $\alpha$ -Pineno	0,119	0,270	Temperatura (°C)	0,006	-1,000
<b>5</b> (Z)- $\beta$ -Ocimeno	-0,221	0,409	Precipitação (mm)	-0,007	-1,000
<b>6</b> (E)- $\beta$ -Ocimeno	1,424	0,397	Evaporação (mL)	0,145	-1,000
<b>9</b> $\alpha$ -Copaeno	0,108	0,166	Insolação (h)	-0,134	1,000
<b>10</b> (E)-Cariofileno	-0,055	-0,426			
<b>14</b> $\alpha$ -Humuleno	-0,118	0,129			
<b>16</b> Biciclogermacreno	1,228	0,432			
<b>17</b> $\alpha$ -Amorfenos	-0,545	-0,262			
<b>24</b> $\gamma$ -Cadineno	-0,051	-0,024			
<b>26</b> $\delta$ -Cadineno	-0,123	0,089			
<b>27</b> Óxido de Cariofileno	-0,414	-0,214			
<b>28</b> Epóxido II de humuleno	0,102	0,428			
<b>29</b> Muurolo-4,10(14)-dien-1 $\beta$ -ol	-0,329	0,175			
Hidrocarbonetos monoterpênicos	-0,065	0,116			
Monoterpenos oxigenados	0,317	0,551			
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	0,309	0,005			
Sesquiterpenos oxigenados	0,037	-0,113			
Autovalores				0,832	
Correlação canônica				0,912	
Lâmbda de Wilks				0,050	
Graus de liberdade				68	
<i>P</i>				0,003	
Variância acumulada (%):					
dos constituintes do óleo essencial				7,2	
da relação constituintes do óleo-variáveis climáticos				83,1	

A produção de óleo essencial pelas plantas tem um papel importante na interação entre planta e animais e também na interação planta-planta. A produção destes metabólitos especiais é uma característica evolutiva que auxilia a planta tanto na defesa contra herbívoros quanto na atração de animais polinizadores.

Goralka e Langenheim (1996) estudaram a variação no rendimento de monoterpenos das folhas em diferentes estágios do desenvolvimento de *Umbellularia californica* (Hook. & Arn.) Nutt. (Lauraceae) verificaram que à medida que a planta passava para a fase adulta o rendimento destes terpenos aumentava e, conseqüentemente, a herbivoria diminuía, permitindo à planta a sua reprodução. No presente trabalho foi observado, através da análise de correlação canônica, que alguns constituintes químicos dos óleos essenciais, como o  $\alpha$ -pineno, tiveram maior percentual na estação seca (inverno). Este período é caracterizado pela emissão de novas folhas fato que exige uma maior quantidade de carbono e macronutrientes para a produção de novas proteínas e, com o aumento da disponibilidade destes nutrientes, a herbivoria tende a aumentar e, como resposta, a capacidade de biossíntese de óleos essenciais parece que também é aumentada. Isto contribui para a defesa da planta contra herbívoros tanto na forma de defesa constitutiva quanto na forma de defesa induzida (DICKE & HILKER, 2003).

#### **4. CONCLUSÃO**

A variabilidade na composição química dos óleos essenciais de amostras de *E. dysenterica* cultivadas sob idênticas condições, originadas de dois sítios de amostragem (CA e SC) sugere estar sob controle genético (quimiotipos CA e SC) entre os locais de amostragem. O estudo sugere também a existência de influências marcantes da época de coleta das amostras dos indivíduos oriundos de SC, os quais podem ser caracterizados como diferentes ecótipos.

Capítulo 3 –  
Variação nos constituintes  
voláteis com o grau de  
maturidade dos frutos de *E.*  
*dysenterica*

## 1. OBJETIVO

Avaliar a composição e a variabilidade química dos óleos essenciais dos frutos de *E. dysenterica* durante os estágios de amadurecimento (verde, semi-maduro e maduro).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Material botânico

Frutos verdes, semi-maduros e maduros de *E. dysenterica* foram coletados na área rural da cidade Abadia de Goiás/GO (S 16°45'31", W 49°25'5", 850m) em outubro/2002 e identificados pelo Prof. Dr. José R. de Paula da Faculdade de Farmácia/UFG. Amostras foram depositadas no Herbarium da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil.

### 2.2. Extração dos óleos essenciais

Vinte frutos uniformes (0,45 Kg) de cada estágio do processo de amadurecimento, livre de sintomas e doenças visuais foram hidrodestilados separadamente usando um aparelho do tipo Clevenger durante 3 h. Em seguida, os óleos foram recolhidos, secos com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e estocados a -18°C em freezer.

### 2.3. Análise química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram analisados quantitativamente por cromatografia gasosa em um equipamento Varian 3900 (FID), utilizando coluna capilar de sílica fundida CBSil-5CB (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura de filme), mantendo-se uma vazão de 1,0 mL/min de Nitrogênio, como gás de arraste. Aquecimento com temperatura programada (60°C a 240°C com um gradiente de 3°C/min; em seguida, a 10°C/min até 280°C). As amostras foram injetadas com uma razão de split de 1:20. A temperatura do injetor foi de 220°C e do detector de 240°C.

Para a análise qualitativa, as amostras dos óleos essenciais foram submetidas a uma análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria

quadrupolar de massas (CG/EM) em um equipamento Shimadzu, modelo QP505A, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (CBP-5; 30 m de comprimento x 0.25 mm de diâmetro interno x 0.25 µm de espessura do filme de 5% de fenilmetilpolisiloxano), mantendo-se uma vazão de 1 mL/min de Hélio, como gás de arraste; temperatura do injetor a 220°C e interface a 240°C e aquecimento com temperatura programada (60°C a 246°C, com um gradiente de 3°C/min; em seguida, a 10°C/min até 260°C, mantendo-se uma isoterma de 1,6 min, com um tempo total de 65 min). O volume de injeção das amostras foi de 0,4 µL diluídas em hexano (~10% p/v), com uma razão de split de 1:20. A análise foi conduzida no modo varredura, com a energia de ionização de 70 eV; intervalo de massa de 40-400 m/z e a uma velocidade de 1,0 scan/s.

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada por comparação dos espectros de massa e índice de retenção com os da literatura (ADAMS, 2007), além da busca (automática e manual) dos espectros de massas com àqueles das bibliotecas NIST/EPA/NIH (1998). Os índices de retenção foram calculados através da co-injeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C<sub>8</sub>-C<sub>32</sub> (Sigma, USA), e com a aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (1963).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento dos óleos dos frutos de *E. dysenterica* nos estágios verde, semi-maduro e maduro foram de 0,23%, 0,18% e 0,1% (p/p), respectivamente. No total, 37 compostos foram identificados (Tabela 7), acumulando 92,7-100% do total de constituintes voláteis. O maior grupo de constituintes químicos foi o dos monoterpenos do óleo essencial dos estágios verde (74,9%) e semi-maduro (83%) (Figura 10), os quais apresentaram percentagens elevadas de limoneno (25,8% e 24,65%), (E)-β-ocimeno (20,3% e 21,7%) e β-pineno (12% e 14,2%), respectivamente. Nos frutos verdes foram identificados tricicleno (11,7%) e α-humuleno (14%), enquanto que α-tujeno só foi encontrado nos frutos semi-maduros (14,7%). O óleo essencial dos frutos maduros foi caracterizado por um alto conteúdo de sesquiterpenos (82,4%) e com uma percentagem elevada de β-

cariofileno (18,4%) e  $\alpha$ -humuleno (15,4%).  $\gamma$ -Muuroloeno (25,8%) ocorreu somente nos frutos maduros.

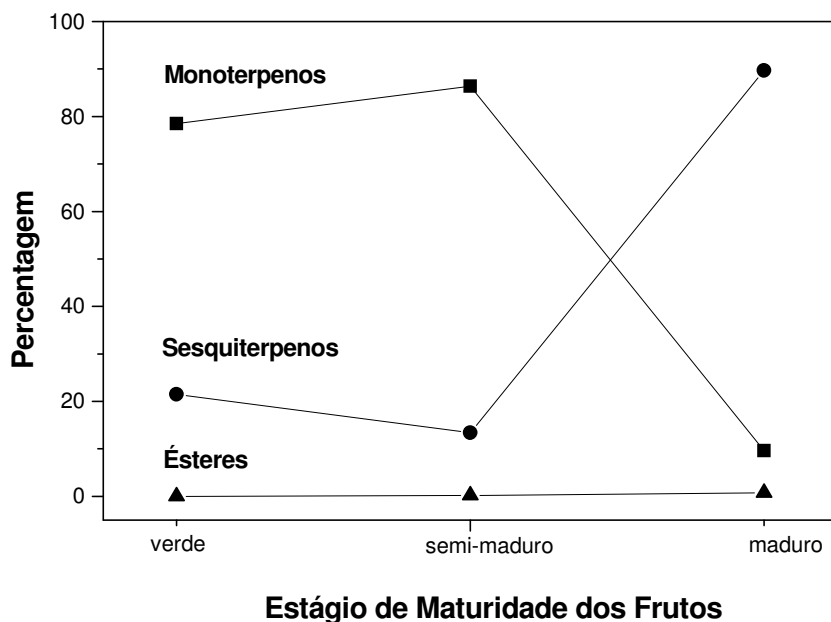
**Tabela 7** - Variação nos constituintes químicos dos óleos essenciais dos frutos de *E. dysenterica* durante três estágios do amadurecimento.

Constituintes	Estágios de amadurecimento do fruto			
	IR <sup>a</sup>	Verde	Semi-maduro	Maduro
Triciclono	927	11,7	0,2	-
$\alpha$ -Tujeno	929	-	14,7	-
Sabineno	967	-	-	1,6
$\beta$ -pineno	972	12,0	14,2	-
Mirceno	986	1,6	2,3	0,5
Hexanoato de etila	995	-	0,2	0,7
$\alpha$ -Felandreno	1001	1,7	2,4	-
$\alpha$ -Terpineno	1013	-	0,3	-
$\rho$ -Cimeno	1020	-	0,1	-
Limoneno	1027	25,8	24,6	1,5
1,8-Cineole	1030	1,7	1,5	2,5
(Z)- $\beta$ -Ccimeno	1033	0,7	0,9	-
(E)- $\beta$ -Ocimeno	1044	20,3	21,7	1,7
$\gamma$ -Terpineno	1054	0,4	0,5	-
Terpinoleno	1085	0,7	1,1	-
Linalool	1097	0,4	0,4	0,9
Terpinen-4-ol	1174	-	0,1	-
$\alpha$ -Terpineol	1188	1,5	1,4	0,9
$\beta$ -Cariofileno	1418	6,6	3,5	18,4
Aromadendreno	1444	-	-	1,2
$\alpha$ -Humuleno	1447	14,0	-	15,4
$\alpha$ -Muuroloeno	1452	-	8,7	-
<i>trans</i> -Cadina-1(6),4-dieno	1475	-	-	0,5
$\gamma$ -Gurjuneno	1481	-	-	0,6
$\gamma$ -Muuroloeno	1486	-	-	25,8
$\beta$ -Selineno	1491	-	-	1,0
7- <i>epi</i> - $\alpha$ -Selineno	1496	-	-	8,6
$\delta$ -Cadineno	1518	-	-	1,9
$\alpha$ -Cadineno	1537	-	-	0,6
Germacreno B	1559	-	-	1,5
Epóxido I de humuleno	1596	-	0,2	1,6
Kusimeno	1600	-	0,4	-
Epóxido II de humuleno	1608	0,9	0,6	-
1,10-di- <i>epi</i> -Cubenol	1621	-	-	1,3
1- <i>epi</i> -Cadinol	1627	-	-	1,4
<i>epi</i> - $\alpha$ -Cadinol	1636	-	-	1,0
$\alpha$ -Muurolol	1649	-	-	1,6

<sup>a</sup>Índice de Retenção.

Verificou-se que a concentração de monoterpenos nos óleos essenciais foi aumentando durante o amadurecimento do fruto, com um decréscimo ao final

(Figura 10). Por outro lado, os sesquiterpenos foram intensamente sintetizados durante o processo de amadurecimento dos frutos.



**Figura 10** - Variação das classes biossintéticas dos terpenos e dos ésteres identificados nos constituintes voláteis durante o amadurecimento dos frutos de *E. dysenterica*.

A dinâmica de produção de terpenos durante o amadurecimento de frutos, neste trabalho, corresponde ao previsto em outras espécies (LALEL & TAN, 2003; SHARON-ASA et al., 2003). Todavia, a concentração total de sesquiterpenos aumentou durante o amadurecimento dos frutos de *E. dysenterica*, enquanto os ésteres não sofreram alteração significativa. Frequentemente, o que se observa é, também, um gradual aumento na concentração de ésteres ao longo do amadurecimento (LALEL & TAN, 2003; SHARON-ASA et al., 2003).

O amadurecimento de frutos tem se mostrado um evento programado geneticamente e o envolvimento de enzimas na biossíntese dos compostos voláteis são particularmente regulados pelo etileno (ZHU et al., 2005). Segundo Taiz e Zeiger (2004), o etileno tem sido reconhecido como o hormônio que acelera o amadurecimento dos frutos sendo que, este amadurecimento vem acompanhado por características como o amolecimento do fruto, devido à quebra

enzimática das paredes celulares, à hidrólise do amido, ao acúmulo de açúcares e ao desaparecimento de ácidos orgânicos e de compostos fenólicos, incluindo os taninos.

O acúmulo de açúcares ao longo do amadurecimento deve ser ressaltado devido à hipótese do balanço entre carbono/nitrogênio proposta por Bryant et al. (1983). Segundo esses autores, em solos pobres, como o do Cerrado/GO, o acúmulo de carboidratos eleva a taxa de biossíntese de compostos especiais baseados em carbonos, como é o caso dos sesquiterpenos. Portanto, o amadurecimento do fruto estaria fornecendo mais açúcares para a biossíntese dos terpenóides de 15 carbonos.

#### **4. CONCLUSÃO**

Durante o processo de amadurecimento dos frutos de *E. dysenterica* foram observadas alterações pronunciadas na composição química dos constituintes voláteis, resultando em um acúmulo de sesquiterpenos ao final do amadurecimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4<sup>th</sup> ed. Carol Stream: Allured, 2007.

BARAZANI, O.; COHEN, Y.; FAIT, A.; DIMINSHTEIN, S.; DUDAI, N.; RAVID, U.; PUTIEVSKY, E.; FRIEDMAN, J. Chemotypic differentiation in indigenous populations of *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* in Israel. *Biochemical Systematics and Ecology* 30, p. 721-731, 2002.

BENZÉCRI, J.P. L'Analyse des données: la taxinomie. Tome1. Paris: Dunod, 1980.

BORG-KARLSON, A.-K. Chemical and ethological studies of pollination in the genus *Ophrys* (orchidaceae). *Phytochemistry* 29, p. 1359-1387, 1990.

BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S.; KLEIN, D. R.; *Oikos* 40, p. 357, 1983.

CHENG, AX.; XIANG, C.Y.; LI, J.X.; YANG, C.Q.; HU, W.L.; WANG, L.J.; LOU, Y.G.; CHEN. X.Y. The rice (E)- $\beta$ -caryphyllene synthase (OsTPS3) accounts for the major inducible volatile sesquiterpenes. *Phytochemistry* 68, p. 1632-1641, 2007.

COSTA, T.R.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C.; OLIVEIRA, C.M.A.; LIÃO, L.M.; FERNANDES,O.F.L.; PAULA,J.R.; FERREIRA, H.D.; SALES, B.H.N.; SILVA, M.R.R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *Journal of ethnopharmacology* 72, p. 111-117, 2000.

CROCK J., WILDUNG M., CROTEAU R. Isolation and bacterial expression of a sesquiterpene synthase cDNA clone from peppermint (*Mentha × piperita*, L.) that

produces the aphid alarm pheromone (E)- $\beta$ -farnesene. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA 94, p. 12833-12838, 1997.

DAVID, E.F.S.; BOARO, C.S.F.; MARQUES, M.O.M. Rendimento e composição do óleo essencial de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 8, p. 183-188, 2006.

DICKE, M., HILKER, M. Induced plant responses: from molecular to evolutionary biology. Basic and Applied Ecology 4, p. 3-14, 2003.

EL-SAWI, S.A.; MOHAMED, M.A. Cumin herb as a new of essential oils and its response to foliar spray with some micro-elements. Food Chemistry 77, p. 75-80, 2002.

FONSECA, A.; MUNIZ, I. A. F.; Informação sobre a cultura de espécies frutíferas da região de cerrado. Informe Agropecuário 16, p. 12-17, 1992.

FRACARO, F.; ECHEVERRIGARAY, S. Micropropagation of *Cunila galioides*, a popular medicinal plant of south Brazil. Journal Plant Cell Tissue and Organ Culture 64, p. 1-4, 2001.

GORALKA, R.J.L.; LANGENHEIM, J.H. Implications of foliar monoterpenoid variation among ontogenetic stages of the California bay tree (*Umbellularia californica*) for deer herbivory. Biochemical Systematics and Ecology 24, p. 13-23, 1996.

HAIR, J.F.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L.; BLACK, W.C. Análise Multivariada de dados, 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2005.

HARBORNE, J. B. Advances in Chemical Ecology. Natural Product Reports p. 327-347, 1993.

LALEL, H.J.D., TAN, S.C. Aroma volatiles production during fruit ripening of 'Kensington Pride' mango. Postharvest Biology and Technology 27, p. 323-336, 2003.

LEBART, L.; MORINEAU, A .; LAMBERT,T.; PLEUVRET,P. SAPD.N versão 2.5. Sistema Compatible para el Análisis de Datos. Saint Mandé: Centre International de Statistique et d'Informatique Apliques, 1994.

LEE, L.S.; BROOKS, L.O.; HOMER, L.E.; ROSSETO, M.; HENRY, R.J.; BAVERSTOCK, P.R. Geographic variation in the essential oils and morphology of natural populations of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). Biochemical Systematics and Ecology 30, p. 343-360, 2002.

LIMA, H.R.P.; KAPLAN, M.A.C.; CRUZ,A.V.M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. Revista Floresta e Ambiente 10, p.71-77, 2003.

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

LORENZI, L. Arvores Brasileiras: Manual de Identificacao e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, Vol. 2. Plantarum: Nova Odessa, SP, 1998.

LOZIENE, K.; VENSKUTONIS, P.R. Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. Biochemical Systematics and Ecology 33, p. 517-525, 2005.

MUNN, R.; TIEMANN, T.; SCHULZ, S.; HILKER, M. Analysis of volatiles from black pine (*Pinus nigra*): significance of wounding and egg deposition by a herbivorous sawfly. *Phytochemistry* 65, p. 3221-3230, 2004.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database, Department of Commerce, Gaithersburg, MD. U. S., 1998.

PICAUD, S.; OLOFSSON, L.; BRODELIUS, M.; BRODELIUS, P.E. Expression, purification, and characterization of recombinant amorpha-4,11-diene synthase from *Artemisia annua* L. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 436, p. 215-226, 2005.

RANDRIANALIJAONA, J.A.; RAMANOELINA, P.A.R.; RASOARAHONA, J.R.E.; GAYDOU, E.M. Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana camara* L. essential oils from Madagascar. *Analytica Chimica Acta* 545, p. 46-52, 2005.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia Vegetal*, 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro; Editora Guanabara Koogan, 2001.

ROBLES, C.; GARNIZO, S. Intraspecific variability in the essential oil composition of *Cistus monspeliensis* leaves. *Phytochemistry* 53, 71-75, 2000.

SANO, S. M.; FONSECA, C. E. L.; RIBEIRO, J. F.; OGA, F. M.; LUIZ, A. J. B.; *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30, p. 5, 1995.

SHARON-ASA, L.; SHALIT, M.; FRYDMAN, A.; BAR, E.; HOLLAND, D.; OR, E.; LAVI, U.; LEWINSOHN E. AND EYAL, Y. Citrus fruit and aroma biosynthesis: isolation, functional characterization, and developmental regulation of Cstps 1, a

key gene in the production of the sesquiterpene aroma compound valencene. *Plant Journal* 36, p. 664-674, 2003.

SILVA, N.A.; OLIVEIRA, F.F.; COSTA, L.C.B.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, R.A. Caracterização química do óleo essencial de erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8, p. 52-55, 2006.

SILVA, R.S.M.; Caracterização de sub-populações de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) do sudeste de Goiás. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, 1999a.

SILVA, S.C.; Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes, 1<sup>a</sup> ed., Embrapa: Brasília, 1999b.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento, 5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: UFRGS/EDUFSC, 2005.

SRIVASTAVA, R.K.; SINGH, A.K.; KALRA, A.; TOMAR, V.K.S.; BANSAL, R.P.; PATRA, D.D.; CHAND, S.; NAGVI, A.A.; SHARMA, S., KUMAR, S. Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indo-Gangetic plains. *Industrial Crops and Products* 15, p. 189-198, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal, 3<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAVEIRA, F.S.N.; LIMA, W.N.; ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J.G.S. Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla*. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, p. 69-75, 2003.

TELLES, M.P.C.; SILVA, R.S.M.; CHAVES, L.J.; COELHO, A.S.G.; FILHO, J.A.F.D. Divergência entre populações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. Pesquisa Agropecuária Brasileira 36, p.1387-1394, 2001.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the Retention Index system including linear temperature programmed gás-liquid partition chromatography. Journal of Chromatography 11, p. 463-471, 1963.

ZUCCHI, M.I.; PINHEIRO, J.B.; CHAVES, L.J.; COELHO, A.S.G.; COUTO, M.A.; MORAIS, L.K.; VENCOSKY, R. Genetic structure and gene flow of *Eugenia dysenterica* natural populations. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40, p.975-980, 2005.

ZHU, H. L.; ZHU, B. Z.; FU, D. Q.; Y.; HÃO, Y. L. AND LUO, Y. B. Role of ethylene in the biosynthetic pathways of aroma volatiles in ripening fruit. Russian Journal of Plant Physiology 52, p. 691-695, 2005.

WARD, J.H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. Journal of the American Statistical Association 58, p.238-244, 1963.

WOLD, A., ERIKSSON, L. Statistical validation of QSAR results. In: Waterbeemd, H. (Ed.), Chemometric Methods in Molecular Design, vol. 2. VCH, Weinheim, Germany, p. 309-318. 1995.

## APÊNDICE

**Apêndice 1 – Percentagem dos constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* (população: cultivada/silvestre; local de coleta: SC/CA).**

Amostra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1.SCCS	9,22	10,85	1,75	6,64	2,98	1,49	0,67	0,30	3,10	16,73	0,86	2,47	1,44	14,03	0,45	0,00	0,37	3,22	0,48	0,49	5,46	0,43	0,24	7,93	0,00	5,68	0,38	0,28	0,19
2.SCCS	13,19	14,13	1,56	4,66	12,72	2,81	0,39	0,00	0,00	10,17	0,00	0,67	2,13	6,32	0,00	0,00	0,12	6,76	0,00	0,65	0,00	0,00	0,28	14,08	2,30	1,09	1,85	0,65	0,00
3.SCCS	4,44	5,85	9,73	1,25	0,00	0,26	0,16	0,36	1,84	22,54	3,02	1,39	3,62	7,09	0,39	0,00	0,82	1,07	0,00	1,24	0,32	4,67	0,57	20,39	0,00	5,45	1,44	0,50	0,00
4.SCCS	7,98	6,64	0,75	18,25	3,96	2,24	0,46	0,00	3,86	16,16	0,00	0,36	0,99	19,31	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,23	0,00	0,00	6,24	0,00	6,19	1,32	1,25	1,11
5.SCCS	5,90	6,90	0,80	5,45	7,31	2,76	0,58	0,25	2,51	19,40	0,00	1,44	3,37	11,77	0,62	0,12	0,00	0,00	0,00	0,38	0,47	0,00	0,00	19,22	0,00	5,47	1,90	1,04	0,30
6.SCCS	9,33	7,58	1,86	6,93	0,00	0,68	0,78	1,04	5,69	30,64	2,27	0,00	0,00	3,42	0,54	0,00	0,00	4,66	0,67	0,00	0,23	2,96	0,00	1,09	2,52	6,35	3,82	0,00	1,90
7.SCCS	9,86	9,22	0,33	10,53	0,00	0,00	0,29	0,62	2,13	12,64	0,74	2,20	1,84	8,02	0,78	0,00	0,77	2,57	2,82	0,87	4,62	0,33	0,00	12,35	2,93	4,15	1,91	1,26	1,47
8.SCCS	7,85	8,12	1,02	1,31	8,66	2,34	0,63	0,44	2,11	30,13	0,78	2,67	1,70	6,70	0,71	0,00	3,19	0,00	0,47	0,47	4,63	0,30	0,20	7,44	0,00	3,93	2,12	0,45	0,00
9.SCCS	5,80	5,17	0,84	1,27	6,58	1,53	0,68	0,91	4,36	43,39	2,06	0,42	1,20	3,00	0,00	0,00	0,44	0,00	0,53	0,62	0,00	2,74	0,00	7,25	0,00	8,02	2,72	0,00	0,00
10.CASS	0,00	0,00	0,45	0,00	3,45	0,89	0,49	0,00	7,41	29,40	9,08	0,00	0,00	3,30	1,13	0,00	2,48	0,00	2,84	0,00	0,91	12,13	0,00	0,00	0,00	11,93	10,13	1,15	0,00
11.CASS	5,14	2,72	0,70	1,54	0,00	0,00	0,94	0,89	13,84	20,73	0,00	0,00	0,00	17,09	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,97	0,00	0,00	0,87	0,00	17,91	2,08	3,89	4,79
12.CASS	5,44	3,69	0,00	2,69	0,00	0,00	0,00	0,62	14,03	20,60	0,00	0,00	0,00	17,39	0,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,71	0,00	0,00	1,11	0,00	21,05	1,11	1,41	2,66
13.CASS	12,17	9,47	1,59	2,61	0,00	0,43	0,87	0,64	11,95	21,22	0,00	0,00	0,00	16,54	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00	12,53	2,59	2,64	2,19
14.CASS	1,53	2,00	1,43	0,50	10,86	2,21	0,00	0,00	11,65	17,01	0,00	0,00	0,00	14,02	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,62	0,00	14,13	10,32	7,85	2,58
15.CASS	2,51	2,33	0,64	0,57	0,00	0,00	0,63	0,39	13,11	28,63	0,00	0,00	0,00	22,27	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,55	0,00	0,00	0,45	0,00	19,82	2,33	2,07	1,73
16.SCSS	11,25	8,09	0,00	27,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,53	0,00	0,78	2,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	31,88	0,00	1,27	7,07	0,00	1,09
17.SCSS	8,07	8,36	2,05	13,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	13,48	0,00	1,39	3,97	0,71	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	34,00	0,00	1,64	8,77	0,00	0,00
18.SCSS	3,75	2,98	9,07	13,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,56	0,00	1,26	3,62	22,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,26	0,00	0,00	0,00	23,52	0,00	1,53	1,7	2,35	0,00
19.SCSS	9,91	10,34	1,97	1,84	0,00	0,00	0,00	0,55	0,76	22,42	0,00	0,72	2,54	1,15	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	28,24	0,00	1,04	14,28	0,00	0,00
20.SCSS	2,27	0,00	0,00	14,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	21,27	0,00	0,84	2,36	12,35	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	22,78	0,00	1,43	11,03	4,3	0,65
21.CACS	4,28	2,99	1,14	1,09	7,46	1,60	0,64	0,00	13,37	20,45	0,00	0,00	0,00	7,43	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	17,41	7,11	4,01	3,47
22.CACS	7,05	3,64	0,63	1,81	4,94	0,89	0,58	0,88	8,61	34,51	2,75	0,66	0,73	7,78	1,17	0,00	0,71	0,00	0,82	0,00	0,46	3,82	0,00	0,84	0,00	10,24	4,26	1,86	0,37
23.CACS	3,95	2,31	0,38	0,95	2,32	0,39	0,30	0,74	5,87	28,16	6,73	0,00	0,00	3,08	0,81	0,00	2,12	0,00	2,41	0,00	0,42	7,99	0,00	0,00	0,00	9,43	12,30	1,38	1,59
24.CACS	7,98	3,73	0,42	2,05	0,00	0,00	0,00	1,53	13,25	30,49	0,00	0,00	0,00	11,04	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,76	0,00	0,00	0,00	0,00	16,54	3,00	2,00	3,05
25.CACS	8,83	6,67	0,00	2,25	0,00	0,00	0,29	1,93	7,36	16,44	0,00	0,00	0,96	9,52	0,35	0,00	0,44	12,30	0,38	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	6,55	9,96	3,95	0,58	0,49
26.CACS	4,57	3,21	1,77	1,04	3,59	0,80	0,56	0,51	6,36	16,54	0,00	0,00	0,87	17,25	0,35	0,00	0,31	12,87	0,36	0,00	0,38	0,00	0,00	0,00	5,34	10,54	2,84	4,01	1,26
27.CACS	9,02	2,72	0,50	2,71	3,13	0,61	0,36	0,77	10,39	16,84	0,00	0,93	0,96	17,47	1,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	1,39	0,00	17,32	2,26	5,68	1,75
28.CACS	12,19	6,98	0,00	2,72	0,00	0,00	0,00	1,80	4,71	14,77	0,00	0,00	0,95	18,81	0,00	0,00	0,00	9,39	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,92	6,56	5,03	3,76	1,30
29.CACS	6,16	2,96	0,63	1,66	0,00	0,00	0,20	0,98	11,39	17,63	0,00	0,00	0,00	29,65	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	12,77	1,78	4,98	2,76
30.CACS	7,98	4,37	0,21	1,60	3,41	0,72	0,24	0,39	10,98	21,47	2,78	0,00	0,00	12,09	0,86	0,00	0,83	0,00	1,04	0,00	0,86	4,97	0,00	0,255	0,00	17,57	2,59	1,55	1,13
31.CACS	8,19	4,59	0,81	2,26	0,00	0,00	0,00	1,18	7,58	29,16	4,31	1,30	1,17	9,32	1,46	0,00	1,28	0,00	1,74	0,00	1,19	4,53	0,00	1,42	0,00	8,64	4,23	2,14	1,75

SCCS = Senador Canedo/cultivados/seca; CASS = Campo Alegre de Goiás/silvestres/seca; SCS = Senador Canedo/silvestres/seca; CACS = Campo Alegre de Goiás/cultivados/seca;

1- $\alpha$ -pineno; 2- $\beta$ -pineno; 3-mirceno; 4-limoneno; 5-(Z)- $\beta$ -ocimeno; 6-(E)- $\beta$ -ocimeno; 7-linalool; 8- $\alpha$ -terpineol; 9- $\alpha$ -copaeno; 10- $\beta$ -cariofileno; 11-guaieno; 12-6,9-guaiadieno; 13- $\alpha$ -neo-clovene;

14- $\alpha$ -humuleno; 15- $\gamma$ -muurolene; 16- $\alpha$ -amorfo; 17- $\beta$ -selineno; 18- $\delta$ -selineno; 19- $\alpha$ -selineno; 20-biclogermacreno; 21- $\alpha$ -muurolene; 22- $\alpha$ -bulneseno; 23- $\delta$ -amorfo; 24- $\gamma$ -cadineno;

25-7-epi- $\alpha$ -selineno; 26- $\delta$ -cadineno; 27- $\delta$ -óxido de cariofileno; 28- epóxido II de humuleno; 29-muurorola-4,10(14)-dien-1- $\beta$ -ol.

**Apêndice 2 – Percentagem dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* cultivada (local de coleta: SC/CA; estação do ano: seca e chuva).**

Amostra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
1.SCCS	9,22	10,85	1,75	6,64	2,98	1,49	0,67	0,30	3,10	16,73	0,86	2,47	1,44	14,03	0,45	0,00	0,37	3,22	0,48	0,49	5,46	0,43	0,24	7,93	0,00	5,68	0,38	0,28	0,19	
2.SCCS	13,19	14,13	1,56	4,66	12,72	2,81	0,39	0,00	0,00	10,17	0,00	0,67	2,13	6,32	0,00	0,00	0,12	6,76	0,00	0,65	0,00	0,00	0,28	14,08	2,30	1,09	1,85	0,65	0,00	
3.SCCS	4,44	5,85	9,73	1,25	0,00	0,26	0,16	0,36	1,84	22,54	3,02	1,39	3,62	7,09	0,39	0,00	0,82	1,07	0,00	1,24	0,32	4,67	0,57	20,39	0,00	5,45	1,44	0,50	0,00	
4.SCCS	7,98	6,64	0,75	18,25	3,96	2,24	0,46	0,00	3,86	16,16	0,00	0,36	0,99	19,31	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,23	0,00	0,00	6,24	0,00	6,19	1,32	1,25	1,11	
5.SCCS	5,90	6,90	0,80	5,45	7,31	2,76	0,58	0,25	2,51	19,40	0,00	1,44	3,37	11,77	0,62	0,12	0,00	0,00	0,00	0,38	0,47	0,00	0,00	19,22	0,00	5,47	1,90	1,04	0,30	
6.SCCS	9,33	7,58	1,86	6,93	0,00	0,68	0,78	1,04	5,69	30,64	2,27	0,00	0,00	3,42	0,54	0,00	0,00	4,66	0,67	0,00	0,23	2,96	0,00	1,09	2,52	6,35	3,82	0,00	1,90	
7.SCCS	9,86	9,22	0,33	10,53	0,00	0,00	0,29	0,62	2,13	12,64	0,74	2,20	1,84	8,02	0,78	0,00	0,77	2,57	2,82	0,87	4,62	0,33	0,00	12,35	2,93	4,15	1,91	1,26	1,47	
8.SCCS	7,85	8,12	1,02	1,31	8,66	2,34	0,63	0,44	2,11	30,13	0,78	2,67	1,70	6,70	0,71	0,00	3,19	0,00	0,47	0,47	4,63	0,30	0,20	7,44	0,00	3,93	2,12	0,45	0,00	
9.SCCS	5,80	5,17	0,84	1,27	6,58	1,53	0,68	0,91	4,36	43,39	2,06	0,42	1,20	3,00	0,00	0,00	0,44	0,00	0,53	0,62	0,00	2,74	0,00	7,25	0,00	8,02	2,72	0,00	0,00	
10.CACS	4,28	2,99	1,14	1,09	7,46	1,60	0,64	0,00	13,37	20,45	0,00	0,00	0,00	7,43	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	17,41	7,11	4,01	3,47	
11.CACS	7,05	3,64	0,63	1,81	4,94	0,89	0,58	0,88	8,61	34,51	2,75	0,66	0,73	7,78	1,17	0,00	0,71	0,00	0,82	0,00	0,46	3,82	0,00	0,84	0,00	10,24	4,26	1,86	0,37	
12.CACS	3,95	2,31	0,38	0,95	2,32	0,39	0,30	0,74	5,87	28,16	6,73	0,00	0,00	3,08	0,81	0,00	2,12	0,00	2,41	0,00	0,42	7,99	0,00	0,00	0,00	9,43	12,30	1,38	1,59	
13.CACS	7,98	3,73	0,42	2,05	0,00	0,00	0,00	1,53	13,25	30,49	0,00	0,00	0,00	11,04	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,76	0,00	0,00	0,00	0,00	16,54	3,00	2,00	3,05	
14.CACS	8,83	6,67	0,00	2,25	0,00	0,00	0,29	1,93	7,36	16,44	0,00	0,00	0,96	9,52	0,35	0,00	0,44	12,30	0,38	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	6,55	9,96	3,95	0,58	0,49
15.CACS	4,57	3,21	1,77	1,04	3,59	0,80	0,56	0,51	6,36	16,54	0,00	0,00	0,87	17,25	0,35	0,00	0,31	12,87	0,36	0,00	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	5,34	10,54	2,84	4,01	1,26
16.CACS	9,02	2,72	0,50	2,71	3,13	0,61	0,36	0,77	10,39	16,84	0,00	0,93	0,96	17,47	1,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	1,39	0,00	17,32	2,26	5,68	1,75	
17.CACS	12,19	6,98	0,00	2,72	0,00	0,00	0,00	1,80	4,71	14,77	0,00	0,00	0,95	18,81	0,00	0,00	0,00	9,39	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,92	6,56	5,03	3,76	1,3
18.CACS	6,16	2,96	0,63	1,66	0,00	0,00	0,20	0,98	11,39	17,63	0,00	0,00	0,00	29,65	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,77	1,78	4,98	2,76
19.CACS	7,98	4,37	0,21	1,60	3,41	0,72	0,24	0,39	10,98	21,47	2,78	0,00	0,00	12,09	0,86	0,00	0,83	0,00	1,04	0,00	0,86	4,97	0,00	0,255	0,00	17,57	2,59	1,55	1,13	
20.CACS	8,19	4,59	0,81	2,26	0,00	0,00	0,00	1,18	7,58	29,16	4,31	1,30	1,17	9,32	1,46	0,00	1,28	0,00	1,74	0,00	1,19	4,53	0,00	1,42	0,00	8,64	4,23	2,14	1,75	
21.CACC	3,40	2,22	1,86	0,75	7,42	1,79	0,00	0,00	9,69	42,52	0,00	0,00	0,00	3,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	17,04	4,85	0,00	1,89	
22.CACC	4,24	3,06	1,40	0,86	7,06	1,45	0,00	0,00	4,9	39,24	6,47	0,00	0,00	3,75	0,00	0,00	1,39	0,00	1,65	0,00	0,00	11,35	0,00	0,00	0,00	8,97	4,20	0,00	0,00	
23.CACC	1,49	1,51	0,00	1,06	1,19	0,00	0,00	0,00	3,43	41,1	6,42	0,00	0,00	4,45	0,00	0,00	1,50	0,00	1,73	0,00	0,00	12,79	0,00	0,00	0,00	10,18	8,79	0,00	0,00	
24.CACC	4,52	3,33	0,00	1,26	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	26,13	0,00	0,00	0,00	22,52	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,64	0,00	0,00	0,00	0,00	20,9	1,93	2,11	0,00	
25.CACC	2,03	1,64	0,54	0,59	0,00	0,00	0,00	0,00	11,62	20,18	0,00	0,00	0,00	15,38	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,00	0,31	0,00	12,68	24,58	2,91	2,27	
26.CACC	9,15	4,74	0,47	2,52	0,00	0,00	0,00	0,00	5,41	33,29	1,17	0,00	1,25	17,3	1,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,63	0,00	0,00	1,57	0,00	10,64	2,03	1,94	1,87	
27.CACC	0,00	0,00	1,34	0,00	6,69	1,54	0,00	0,00	9,72	20,31	0,00	0,00	0,00	32,13	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	14,68	2,19	4,49	1,22	
28.CACC	2,09	1,74	0,00	0,94	5,93	1,42	0,99	2,09	8,27	28,93	0,00	0,00	0,00	25,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,64	1,58	1,74	0,00	
29.CACC	8,68	7,25	3,27	2,03	0,00	0,00	0,54	0,54	8,64	22,35	0,00	0,00	0,00	32,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,34	1,06	1,62	0,77	
30.CACC	5,86	4,62	0,00	0,98	0,00	0,00	0,00	0,53	13,03	38,55	0,00	0,00	0,00	3,72	0,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,74	0,00	0,00	0,63	0,00	20,56	4,08	0,00	4,21	
31.CACC	2,58	1,45	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	13,37	41,31	0,00	0,00	0,00	4,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00	23,65	5,35	0,00	3,62	
32.CACC	5,67	5,89	1,61	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	13,77	34,24	0,00	0,00	0,00	3,98	0,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,72	0,00	0,00	0,58	0,00	22,97	3,13	0,00	2,62	
33.CACC	3,44	2,58	0,00	0,6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,75	66,38	0,00	1,93	2,00	4,44	1,48	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,75	0,00	0,00	2,48	0,00	3,32	3,79	0,00	0,00	
34.CACC	0,00	0,00	1,06	0,00	0,00	0,00	0,87	0,00	1,94	55,93	0,00	4,29	4,35	3,07	2,80	1,72	0,00	0,00	1,87	0,00	1,99	1,04	0,00	4,58	0,00	5,33	3,37	0,00	0,88	
35.SCCC	10,94	12,78	0,68	14,82	0,33	0,3	0,36	0,00	0,39	50,6	0,00	0,00	0,00	3,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	3,56	0,00	0,00	
36.SCCC	4,65	4,48	1,32	12,02	0,00	0,94	0,82	0,00	0,00	19,68	0,00	2,42	6,48	10,3	0,00	0,00	0,00	0,00	2,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	26,84	0,00	2,93	0,82	0,00	0,00
37.SCCC	6,60	6,53	0,71	15,33	0,00	0,00	0,36	0,00	0,00	14,48	0,00	2,28	6,31	0,82	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,37	0,00	3,40	0,85	0,00	0,00

Amostra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
<b>38.SCCC</b>	4,19	3,19	0,96	23,86	0,00	1,08	0,00	0,00	0,00	19,65	0,00	1,43	3,93	10,62	0,00	0,00	0,00	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,77	23,06	0,00	2,35	0,64	0,00	0,00
<b>39.SCCC</b>	3,92	5,04	16,67	1,17	0,00	0,73	0,00	0,00	0,00	11,84	0,00	2,13	5,84	9,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,94	32,95	0,00	3,09	1,02	1,17	0,00
<b>40.SCCC</b>	11,83	10,69	1,1	27,52	0,00	1,06	0,55	0,00	0,00	7,91	0,00	1,15	3,14	11,00	0,00	0,00	0,00	1,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	18,39	0,00	1,40	0,66	0,76	0,00
<b>41.SCCC</b>	6,92	4,55	1,11	25	0,00	0,56	0,9	0,00	0,00	23,98	0,00	1,39	3,81	1,08	0,00	0,00	0,00	1,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	22,8	0,00	2,60	1,30	0,00	0,00
<b>42.SCCC</b>	16,72	22,87	1,36	17,25	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	7,12	0,00	1,04	2,99	10,12	0,00	0,00	0,00	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,48	0,00	1,37	0,00	0,00	0,00
<b>43.SCCC</b>	9,21	9,59	0,82	18,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	23,47	0,00	0,00	1,2	1,84	0,00	0,00	0,63	4,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,16	9,2	0,00	4,09	0,00	0,00
<b>44.SCCC</b>	6,03	7,14	0,48	7,45	0,00	0,59	0,00	0,00	0,00	10,61	2,14	0,00	1,81	17,15	0,00	1,77	0,92	7,98	1,22	0,00	0,00	1,28	0,00	8,67	0,00	1,31	0,56	1,06	0,00
<b>45.SCCC</b>	4,48	3,63	2,46	12,65	0,00	0,72	0,00	0,00	0,00	15,51	0,00	1,08	3,03	27,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,18	0,00	0,00	0,5	18,59	0,00	1,87	1,73	2,43	0,00
<b>46.SCCC</b>	11,26	15,2	0,00	1,86	0,00	0,00	0,41	0,75	0,00	31,55	0,00	2,32	0,00	1,76	0,00	1,70	1,04	8,38	1,28	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,68	0,00	0,00
<b>47.SCCC</b>	5,95	6,19	1,54	0,93	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	74,00	0,00	0,00	0,00	3,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,91	0,00	0,00

**SCCS** = Senador Canedo/cultivados/seca;; **CACS** = Campo Alegre de Goiás/cultivados/seca; **CACC** = Campo Alegre de Goiás/cultivados/chuva; **SCCC** = Senador Canedo/cultivados/chuva.

**1**- $\alpha$ -pineno; **2**- $\beta$ -pineno; **3**-mirceno; **4**-limoneno; **5**-(Z)- $\beta$ -ocimeno; **6**-(E)- $\beta$ -ocimeno; **7**-linalool; **8**- $\alpha$ -terpineol; **9**- $\alpha$ -copaeno; **10**- $\beta$ -cariofileno; **11**-guaieno; **12**-6,9-guaiadieno; **13**- $\alpha$ -neo-clovene;

**14**- $\alpha$ -humuleno; **15**- $\gamma$ -muurolene; **16**- $\alpha$ -amorfeno; **17**- $\beta$ -selineno; **18**- $\delta$ -selineno; **19**- $\alpha$ -selineno; **20**-bicyclgermacreno; **21**- $\alpha$ -muurolene; **22**- $\alpha$ -bulneseno; **23**- $\delta$ -amorfeno; **24**- $\gamma$ -cadineno;

**25**-7-epi- $\alpha$ -selineno; **26**- $\delta$ -cadineno; **27**-óxido de cariofileno; **28**- epóxide II de humulene; **29**-muurola-4,10(14)-dien-1- $\beta$ -ol.

**Apêndice 3** – Cromatograma total de íons (TIC) de óleos essenciais representativos e espectro de massas dos constituintes químicos majoritários.

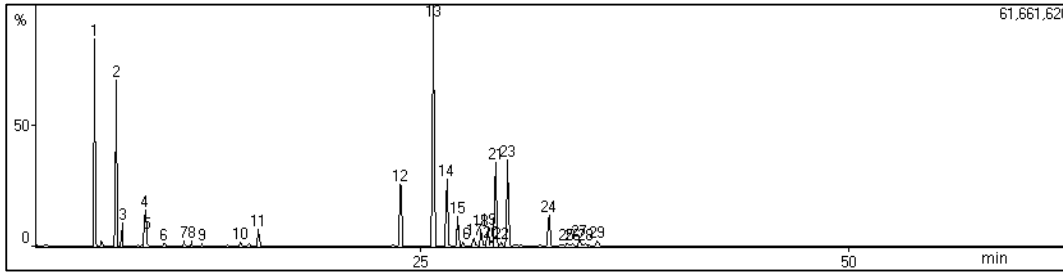


Figure A1. Cromatograma total de íons (TIC) do óleo essencial de folhas de *E. dysenterica*. Representante cultivada originária de Senador Canedo (SC) coletada no inverno.

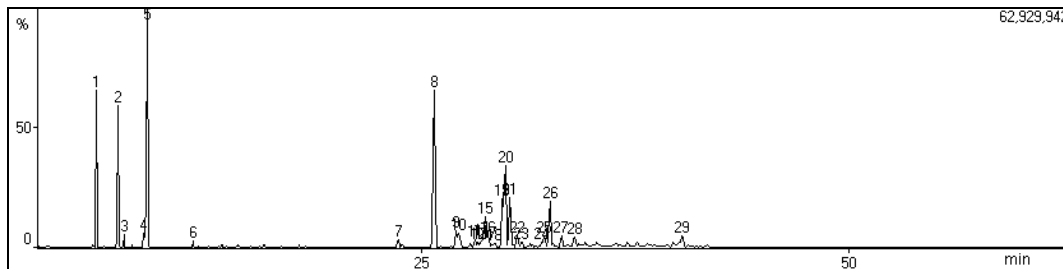


Figure A2. Cromatograma total de íons (TIC) do óleo essencial de folhas de *E. dysenterica*. Representante cultivada originária de Senador Canedo (SC) coletada no verão.

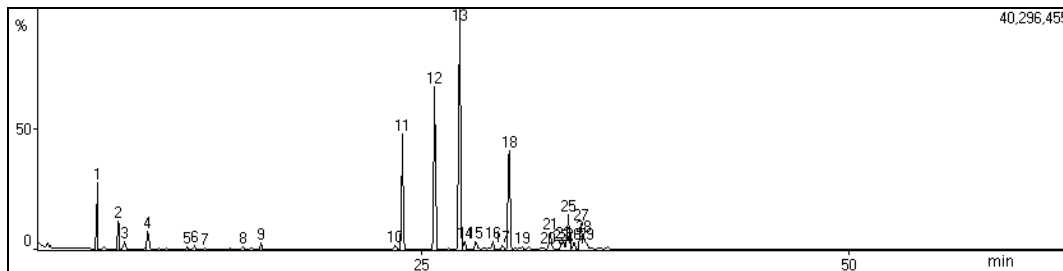


Figure A3. Cromatograma total de íons (TIC) do óleo essencial de folhas de *E. dysenterica*. Representante cultivada originária de Campo Alegre de Goiás (CA) coletada no inverno.

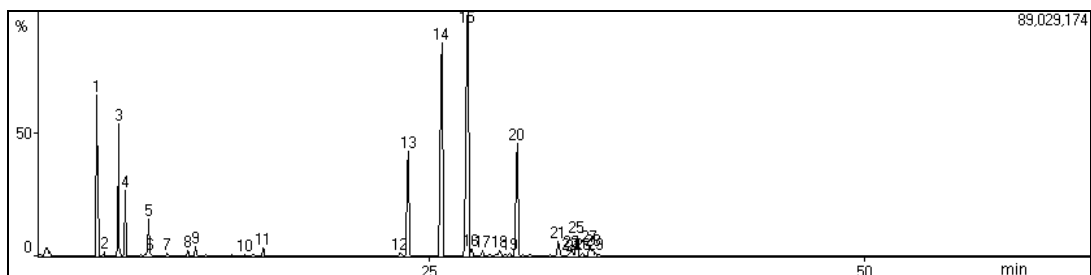


Figure A4. Cromatograma total de íons (TIC) do óleo essencial de folhas de *E. dysenterica*. Representante cultivada originária de Campo Alegre de Goiás (CA) coletada no verão.

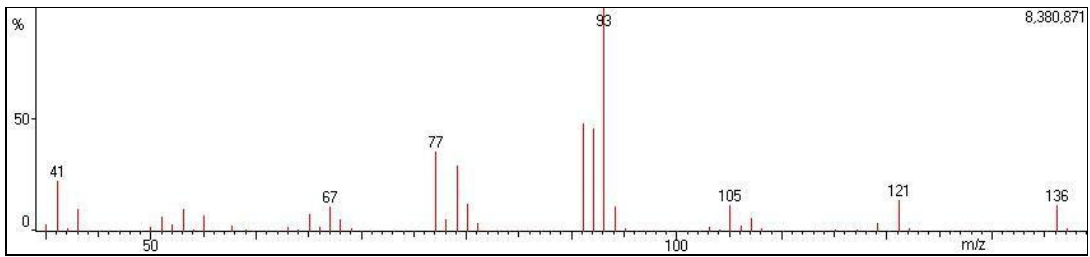
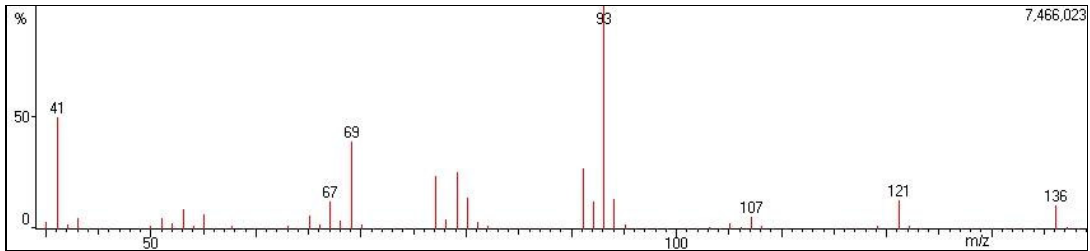
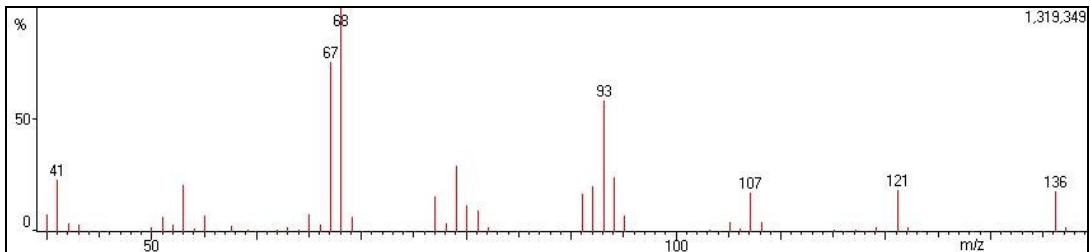
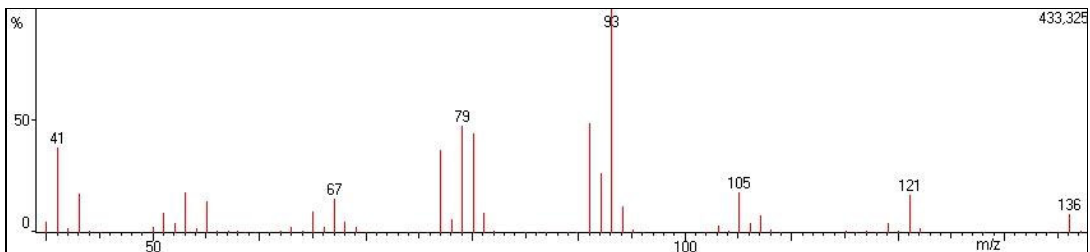
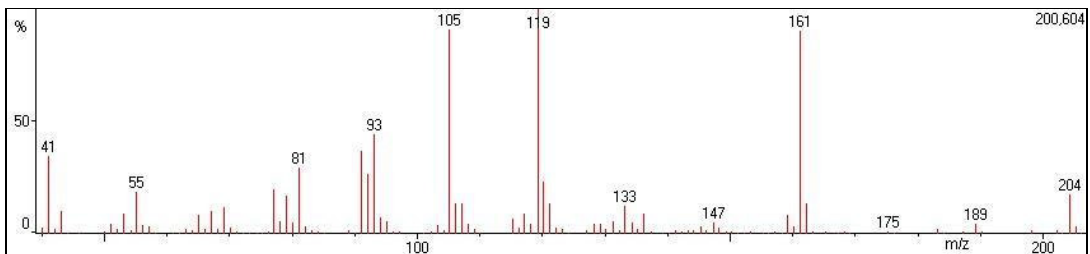
Figure A5. Espectro de massas do  $\alpha$ -pineno.Figure A6. Espectro de massas do  $\beta$ -pineno.

Figure A7. Espectro de massas do limoneno.

Figure A8. Espectro de massas do (Z)- $\beta$ -ocimeno.Figure A9. Espectro de massas do  $\alpha$ -copaeno.

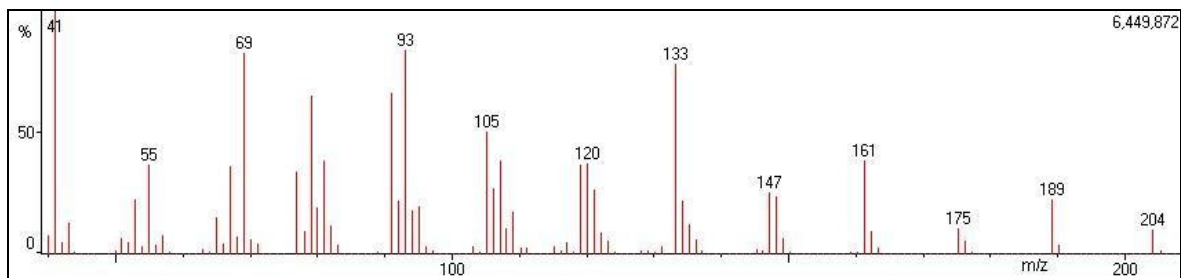
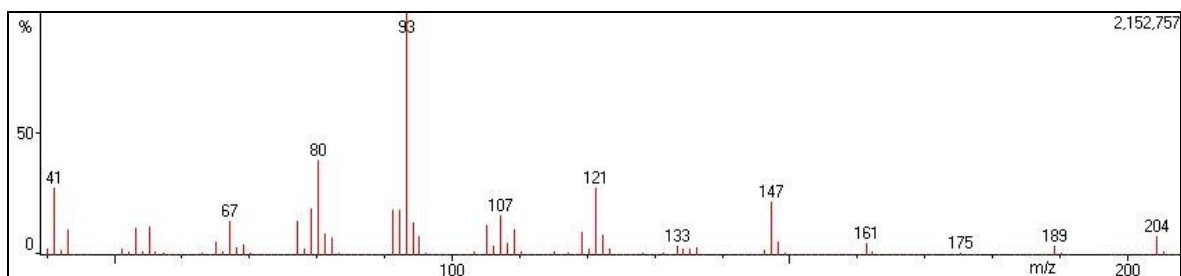
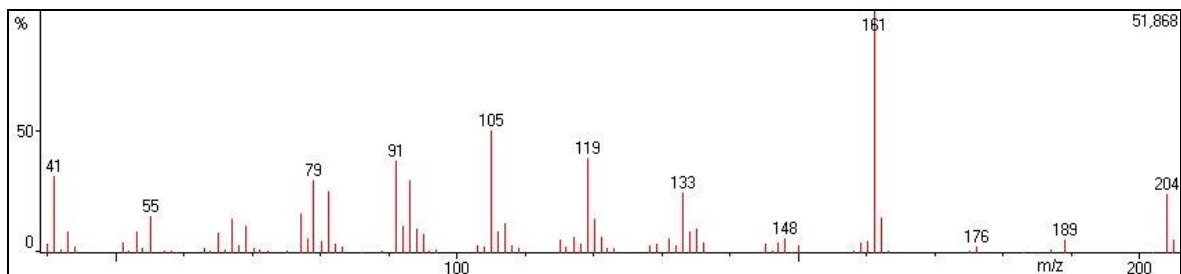
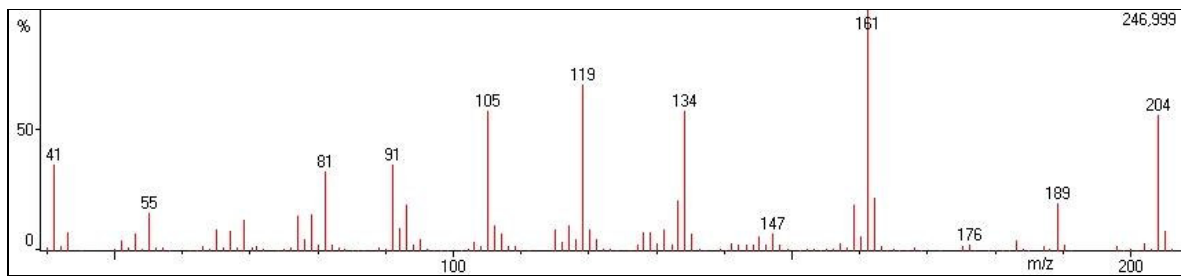
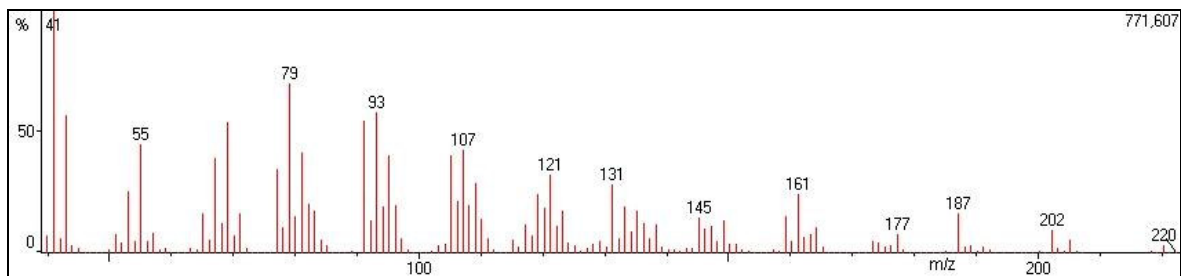
Figure A10. Espectro de massas do  $\beta$ -cariofileno.Figure A11. Espectro de massas do  $\alpha$ -humuleno.Figure A12. Espectro de massas do  $\gamma$ -cadineno.Figure A13. Espectro de massas do  $\delta$ -cadineno.

Figure A14. Espectro de massas do óxido de cariofileno.

**Apêndice 4** – Constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica*.

