



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**ESTUDO DA DIVERSIDADE QUÍMICA E GENÉTICA DE
Eugenia spp. NO ESTADO DE SERGIPE**

LUCAS BARBOSA DOS SANTOS

2018



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

LUCAS BARBOSA DOS SANTOS

ESTUDO DA DIVERSIDADE QUÍMICA E GENÉTICA DE *Eugenia* spp. NO ESTADO DE SERGIPE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientador
Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2018

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S237e Santos, Lucas Barbosa dos.
Estudo da diversidade química e genética de *Eugenia* spp. no Estado de Sergipe / Lucas Barbosa dos Santos; orientador Arie Fitzgerald Blank. – São Cristóvão, 2018.
44 f.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade)–
Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Plantas aromáticas. 2. Diversidade biológica. 3. Essências e óleos essenciais. I. Blank, Arie Fitzgerald, orient. II. Título.

CDU 582.776.2

LUCAS BARBOSA DOS SANTOS

ESTUDO DA DIVERSIDADE QUÍMICA E GENÉTICA DE *Eugenia* spp. NO ESTADO DE SERGIPE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 23 de fevereiro de 2018.

Profa. Dra. Daniela Aparecida de Castro Nizio
UFS/PPGAGRI

Prof. Dr. José Baldin Pinheiro
USP/ESALQ


Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank
UFS
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*A minha família que esteve sempre ao meu lado e a todos que de alguma forma
contribuíram na
construção deste
trabalho*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo dom da vida e por se fazer presente em todos os momentos guiando, protegendo e iluminando meus caminhos. Senhor tu és minha fortaleza!

À Universidade Federal de Sergipe pela oportunidade de realização do Mestrado.

Ao CNPq, CAPES, FAPITEC/SE pelo apoio financeiro.

À minha mãe, Ana Rita, meu pai, Jorge, e meu irmão, Fábio, que mesmo distantes se faziam presentes dando força e apoio ao logo dessa etapa.

A meus primos e tios. Em especial, ao tio Domingos pelos conselhos e ensinamentos, você é como um segundo pai pra mim.

À minha vó Santa e Carmen (*in memória*) não foi fácil perder você durante essa jornada, mas hoje entendo que está em um lugar melhor, próximo de Deus.

Ao meu orientador, prof. Dr Arie Fitzgerald Blank, pelo aprendizado, paciência e todos ensinamentos durante esses dois anos.

Aos grandes parceiros: prof^a. Dr^a. Sheila, pela orientação e por todo auxílio no laboratório de molecular; ao prof. Dr. Paulo Cesar de Lima Nogueira pelo auxílio nas injeções dos óleos essenciais; ao prof. Dr. Marcos Sobral, pela identificação das espécies e por toda atenção, mesmo distante.

À Larissa, Érica, Juliana e Daniela pelo grande suporte no trabalho.

Ao Grupo de Plantas Medicinais Aromáticas, Condimentares e Olerícolas (GPMACO).

A pessoas sensacionais que conheci durante o mestrado: Katily, Dennis, Vanderson, Larissa, Jéssika, Val, Alan, Luís Fernando, Taís, José Carlos, Sara, Valter, Joinha, Fernanda, Alisson, Alex.

À Jéssica Monalisa pela convivência durante esse tempo, por todas as conversas, apoio, madrugadas de estudo, momentos de descontração, por todo suporte. Você foi um verdadeiro presente que o mestrado me deu, sei que vou levar essa amizade para o resto da vida.

Aos meus fiéis amigos de infância, Jamile, Rafaele, Mateus, Rômulo, pelas ligações, amparo e pelos momentos de descontração.

Ao seu Manuel, seu Roberto e dona Nalva, pelo acompanhamento nas matas, ensinamentos e ajuda nas coletas, vocês foram fundamentais para realização deste trabalho.

Ao Grupo Cabrueira que muitas vezes foi meu refúgio de descontração após o estudo.

A todos os professores e funcionários do programa de pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade.

Aos grandes amigos que fiz em Aracaju e a todos que me acolheram bem aqui.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização desse trabalho.

Obrigado a todos!

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe”.

Clarice Lispector

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO GERAL	6
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1. Família Myrtaceae	7
2.2. Gênero <i>Eugenia</i>	7
2.2.1. <i>Eugenia selloi</i> (O.Berg) B.D.Jacks	9
2.2.2. <i>Eugenia subreticulata</i> Glaz.	9
2.3. Diversidade Química de Óleos Essenciais.....	10
2.4. Diversidade Genética em Plantas Aromáticas	11
2.4.1. Marcadores Moleculares ISSR	12
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
4. ARTIGO 1: Análise da diversidade química e genética de <i>Eugenia</i> spp. (Myrtaceae).....	18
RESUMO.....	18
4.1. INTRODUÇÃO	19
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.2.1. Áreas de estudo e material vegetal	20
4.2.2. Extração e análise da composição química dos óleos essenciais.....	21
4.2.3. Extração do DNA e amplificação PCR-ISSR.....	22
4.2.4. Análise dos dados	22
4.3. RESULTADOS	23
4.3.1. Análise da diversidade química nos óleos essenciais	23
4.3.2. Análise da diversidade genética.....	28
4.3.3. Análise química dos óleos essenciais por espécie	30
4.4. DISCUSSÃO	34
4.4.1. Análise da diversidade química nos óleos essenciai	34
4.4.2. Análise da diversidade genética.....	35
4.5. CONCLUSÕES	37
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
5. ANEXOS	43

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura		Página
1	Planta de <i>E. selloi</i> (A), com detalhe da flor (B) e do fruto (C), em indivíduo que ocorre no município de Brejo Grande, Sergipe.....	9
2	Planta de <i>E. subreticulata</i> (A) e frutos (B), em indivíduos que ocorrem no município de Poço Redondo, Sergipe.....	10

ARTIGO 1

Figura		Página
1	Mapa com a localização das plantas do gênero <i>Eugenia</i> coletadas em populações naturais no Estado de Sergipe, Brasil	20
2	Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre 31 plantas de <i>Eugenia</i> spp. para a composição química do óleo essencial.....	23
3	Médias dos principais constituintes químicos do óleo essencial dos quatro grupos químicos de <i>Eugenia</i> spp. (C03) δ -elemeno, (C04) α -copaeno, (C05) β -bourboneno, (C08) (E)-cariofileno, (C09) cedreno, (C12) α -humuleno, (C13) α -neo-clovene, (C14) germacreno D, (C15) biciclogermacreno, (C16) β -bisaboleno, (C17) δ -cadineno, (C18) espatulenol, (C20) globulol (C21) viridiflorol, (C23) trans- β -elemenona, (C24) muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol, (C27) α -cadinal, (C28) (Z,E)-germacrona e (C30) (E,E)-germacrona	24
4	Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial de plantas de <i>Eugenia</i> spp. em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP). Compostos: (C01) limoneno, (C02) metil geranato, (C03) δ -elemeno, (C04) α -copaeno, (C05) β -bourboneno, (C06) β -elemeno, (C07) sibireno, (C08) (E)-cariofileno, (C09) β -cedreno, (C10) γ -elemeno, (C11) (Z)- β -farneseno, (C12) α -humuleno, (C13) α -neo-clovene, (C14) germacreno D, (C15) biciclogermacreno, (C16) β -bisaboleno, (C17) δ -cadineno, (C18) espatulenol, (C19) óxido de cariofileno, (C20) globulol (C21) viridiflorol, (C22) (Z)- β -elemenona, (C23) (E)- β -elemenona, (C24) muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol, (C25) (Z)-cadin-4-en-7-ol, (C26) epi- α -muurolol, (C27) α -cadinal, (C28) (Z,E)-germacrona, (C29) germacrona-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol, (C30) (E,E)-germacrona	25
5	Dendrograma gerado pelo método de grupo de pares não ponderado com análise de média aritmética (UPGMA) de índices de similaridade de Jaccard para <i>Eugenia</i> spp. no Estado de Sergipe, Brasil	29
6	Gráfico mostrando o coeficiente de associação individual de <i>Eugenia</i> spp. do Estado de Sergipe em seus respectivos grupos, conforme produzido pelo software Structure (K = 2)	29
7	Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre plantas de <i>Eugenia subreticulata</i> (A) e <i>E. selloi</i> (B) para a composição química do óleo essencial.....	31
8	Médias dos principais constituintes químicos do óleo essencial dos três grupos químicos de <i>Eugenia subreticulata</i> (A) e dois grupos de <i>E. selloi</i> (B).....	32
9	Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial de plantas de <i>Eugenia subreticulata</i> (A) e <i>E. selloi</i> (B) em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP)..	33

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela		Página
1	Identificação das plantas de <i>Eugenia</i> spp. coletadas em três locais do Estado de Sergipe, Brasil.....	21
2	Teores (TOE,%) e constituintes químicos do óleo essencial extraídos de plantas de <i>Eugenia</i> spp. do Estado de Sergipe, Brasil.....	26
3	Coeficientes de correlação para os constituintes químicos do óleo essencial de <i>Eugenia</i> spp. no Estado de Sergipe, Brasil.	27
4	Sequências, temperaturas de anelamento (T), número de fragmentos, número de fragmentos polimórficos e percentagem de polimorfismo (P%) gerado por cada primers ISSR usado para análise de diversidade genética de <i>Eugenia</i> spp.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CG-EM	Cromatografia em Fase Gasosa/Espectrometria de Massas
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
DIC	Detector por Ionização de Chama
IR	Índice de Retenção
IE	Ionização por Elétrons (Flame ionization)
Da	Dalton
eV	Elétron Volt He Hélio
m/z	Relação Massa/Carga
ACP	Análise de Componente Principal
PCR	Reação em cadeia da polimerase
UPGMA	Método de Grupo de Pares não Ponderado com Média Aritmética

RESUMO

SANTOS, Lucas Barbosa dos. **Estudo da diversidade química e genética de *Eugenia* spp. no estado de Sergipe**. São Cristóvão: UFS, 2018. 44p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).

No Estado de Sergipe encontram-se diversas espécies do gênero *Eugenia* e são popularmente chamadas de uvaia. Observa-se que as espécies deste gênero estão desaparecendo, principalmente devido à exploração das florestas nativas sem estratégias de manejo, e a expansão agropecuária e urbana. Desta forma, o estudo de diversidade química e genética tem sido utilizado como uma ferramenta importante que possibilita reconhecer as espécies com prioridades de conservação ou que podem ser selecionadas em programa de melhoramento genético, além de auxiliar no estudo de outras potencialidades medicinais. O objetivo desse estudo foi analisar a diversidade química dos óleos essenciais e a caracterização genética de populações nativas de plantas conhecidas como uvaia (*Eugenia* spp.) no Estado de Sergipe. As análises químicas foram realizadas através da GC/EM/DIC, e as análises genéticas através do marcador ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat). No total, 30 compostos foram identificados nos óleos essenciais, que se distribuíram dentro dos grupos químicos independentemente da espécie e do local de coleta. Pela análise de agrupamento, houve a formação de quatro grupos. O grupo 1, constituído por 4 plantas caracterizou-se por apresentar os compostos α -copaeno (19,06-22,91%), (E)-cariofileno (17,58-21,37%), germacreno D (11,55-14,28%) e δ -cadineno (9,01-11,17%) como majoritários. O grupo 2, constituído por 11 plantas, apresentou δ -elemeno (2,60-21,18%), germacreno D (6,58-22,13%) e/ou biciclogermacreno (0-26,36%) como os principais compostos. O grupo 3, constituído por 9 plantas, caracterizou-se por apresentar espatulenol (18,09-49,61%) e/ou (E)- β -elemenona (0-30,15%) e muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol (5,58-13,35) como composto majoritário. O grupo 4, constituído por 7 plantas, apresentando espatulenol (2,68-25,62) e (E)- β -elemenona (35,21-49,05%) como os principais compostos. Nas análises moleculares, a diversidade genética de Nei (*He*) variou de 0,25 a 0,29, com valor médio de 0,27 entre as diferentes espécies de *Eugenia* estudadas. O índice de Shannon (*I*) variou de 0,37 a 0,44, com média de 0,40. O método UPGMA (método de grupo de pares não ponderado com média aritmética) dividiu as plantas em dois grupos, com uma evidente separação entre as duas espécies. As plantas destes dois grupos foram classificadas como *Eugenia selloi* (O.Berg) B.D. Jacks e *Eugenia subreticulata* Glaz. O agrupamento genético mostrou-se diferente do agrupamento químico. A diversidade genética dentro de cada espécie pode ser considerada baixa, devendo-se adotar estratégias de conservação vegetal. A análise da diversidade química dos óleos essenciais das espécies individualmente demonstrou a formação de três grupos químicos na espécie *Eugenia subreticulata* e dois grupos químicos na *E. selloi*.

Palavras-chave: *Eugenia selloi*, *E. subreticulata*, uvaia, planta aromática, óleo essencial, marcador ISSR.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank – UFS (Orientador).

ABSTRACT

SANTOS, Lucas Barbosa dos. **Study of the chemical and genetic diversity of *Eugenia* spp. in the state of Sergipe.** São Cristóvão: UFS, 2018. 44p. (Thesis - Master of Science in Agriculture and Biodiversity).*

The state of Sergipe holds several species of the genus *Eugenia*, which are popularly known as uvaia. Species of this genus have been disappearing, mainly due to the lack of management strategies for native forests exploitation and agricultural and urban expansion. Thus, the study of chemical and genetic diversity has been used as an essential tool that allows recognizing the species that need conservation priorities, or that can be selected in a breeding program, besides helping to detect other medicinal potentialities. The objective of this study was to analyze the chemical diversity of essential oils and the genetic characterization of native populations of uvaia plants (*Eugenia* spp.) in the state of Sergipe. The chemical analyses were performed using GC/MS/FID, and genetic analyses were carried out using the ISSR marker (Inter-Simple Sequence Repeat). Thirty compounds were identified in the essential oils, which were distributed within the chemical groups, regardless the species and collection site. The clustering analysis revealed four groups. Group 1, consisting of four plants, was characterized by having α -copaenol (19.06-22.91%), (E)-caryophyllene (17.58-21.37%), germacrene D (11.55-14.28%), and δ -cadinene (9.01-11.17%) as major compounds. Group 2, consisting of 11 plants, presented δ -elemene (2.60-21.18%), germacrene D (6.58-22.13%), and/or bicyclogermacrene (0-26.36%) as major compounds. Group 3, consisting of nine plants, was characterized by the presence of spathulenol (18.09-49.61%) and/or (E)- β -elemenone (0-30.15%) and muurola-4,10 (14)-dien-1- β -ol (5.58-13.35%) as major compounds. Group 4, consisting of seven plants, presented spathulenol (2.68-25.62%) and (E)- β -elemenone (35.21-49.05%) as major compounds. In the molecular analyses, the genetic diversity of Nei (He) ranged from 0.25 to 0.29, with a mean value of 0.27 between the different *Eugenia* species. The Shannon index (I) ranged from 0.37 to 0.44, with a mean of 0.40. The UPGMA method (unweighted pair group method with arithmetic mean) revealed two groups of plants, with an evident separation between the two species, which were classified as *Eugenia selloi* (O.Berg) B.D. Jacks and *Eugenia subreticulata* Glaz. The genetic clustering proved to be different from the chemical clustering. Genetic diversity within each species can be considered as low and indicates the urge for the development of plant conservation strategies. The individual analysis of the chemical diversity of the essential oils of the species formed three chemical groups in *Eugenia subreticulata* and two chemical groups in *E. selloi*.

Keywords: *Eugenia selloi*, *E. subreticulata*, uvaia, aromatic plant, essential oil, ISSR marker.

* Supervising Committee: Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank – UFS (Advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é considerado o país com a maior biodiversidade vegetal do mundo e apresenta cerca de 55.000 espécies catalogadas (Silva et al., 2015). No entanto, apesar dessa diversidade, percebe-se que muitas espécies ainda não foram estudadas com objetivo de se comprovar o potencial econômico delas. Segundo Guerra et al. (2001) apenas 1.100 espécies vegetais foram avaliadas quanto às suas propriedades medicinais e 8% estudadas visando à descoberta de substâncias bioativas.

As plantas são fontes importantes de substâncias bioativas que podem apresentar uma diversidade de moléculas com potenciais usos nas seguintes áreas: farmacológica, agrícola, alimentícia e cosmética. É importante ressaltar que muitas dessas moléculas são encontradas no óleo essencial, o que torna importante seu estudo.

Dentre as diversas famílias de Angiospermas, ricas em óleos essenciais, destaca-se a família Myrtaceae. No Brasil, sua riqueza é representada por aproximadamente 1.034 espécies, pertencentes a 23 gêneros (Sobral et al., 2015). O gênero *Eugenia* é um dos maiores desta família. E ao se tratar de óleo essencial, esse gênero está bem representado, principalmente por apresentar uma composição química diversificada (Dias et al., 2012).

No Estado de Sergipe encontram-se diversas espécies do gênero *Eugenia* e são popularmente chamadas de uvaia, no entanto, observa-se que essas espécies estão desaparecendo, principalmente devido à exploração das florestas nativas sem estratégias de manejo, implantação de pastagem e expansão urbana. Esta extinção de espécies pode ocasionar redução da variabilidade genética e, conseqüentemente, perda de compostos promissores, que podem ser úteis ao homem e muitas vezes nem chegam a ser conhecidos.

Desta forma, o estudo de diversidade química e genética tem sido utilizado como uma ferramenta importante que possibilita reconhecer as espécies com prioridades de conservação ou que podem ser selecionadas em programa de melhoramento genético, além de auxiliar no estudo de outras potencialidades medicinais.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade química dos óleos essenciais e a diversidade genética de populações nativas de *Eugenia spp.*, popularmente chamadas de uvaia, coletadas no Estado de Sergipe, Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Família Myrtaceae

A família Myrtaceae possui cerca de 132 gêneros e aproximadamente 7.000 espécies (Govaerts et al., 2017) com distribuição concentrada principalmente na Austrália e na região neotropical (Souza & Lorenzi, 2008). No Brasil, sua riqueza é representada por aproximadamente 1.034 espécies, pertencentes a 23 gêneros, com ocorrência, nos biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Sobral et al., 2015).

Os representantes desta família são árvores ou arbustos que podem ser pequenos ou grandes e ocorrem em diferentes ambientes. As folhas são simples, inteiras, sem estipulas, com filotaxia opostas ou alternada e espiraladas. Apresentam limbo translúcido com cavidades secretoras. As flores geralmente são bissexuais com impanto desenvolvido, inflorescências solitárias ou reunidas e grande número de estames. O fruto pode ser indeiscente do tipo baga, deiscente do tipo cápsula, drupa, aquênio ou pixídio (Schultz, 1968; Judd et al., 2002; Sobral et al., 2015).

Esta família apresenta espécies com potencial econômico e destacam-se as frutíferas, cujos frutos podem ser consumidos in natura ou em forma de suco, doces, geleias, sorvetes. Outras espécies apresentam características ornamentais e são bastante recomendadas para paisagismo e recuperação de áreas degradadas. E existem espécies aromáticas que se destacam pelo uso do óleo essencial e na fabricação de produtos (Lorenzi et al., 2006; Souza & Lorenzi, 2008).

Do ponto de vista taxonômico, essa família é uma das mais complexas, tanto pelo número de espécies, quanto pelo uso das suas características para delimitação de grandes grupos (Souza & Lorenzi, 2008). São separados em duas subfamílias: Leptospermoideae e Myrtoideae. Na primeira predomina um complexo basicamente australiano que reúne as espécies com cápsulas ou nozes e folhas alternas ou opostas, abrange gêneros como *Eucalyptus*, *Leptospermoideae*, *Callistemon*, *Melaleuca* e *Metrosideros*. E a segunda engloba as espécies com frutos carnosos do tipo baga e folhas opostas, incluído gêneros como *Calyptanthus*, *Myrcianthes*, *Psidium*, *Syzygium* e *Eugenia* (Judd et al., 1999; Judd et al., 2009).

2.2. Gênero *Eugenia*

O gênero *Eugenia* é um dos maiores da família Myrtaceae (Dias et al., 2012) que contém aproximadamente 3643 espécies (Govaerts et al., 2017), com distribuição desde o México e Caribe até o norte da Argentina. No Brasil são estimadas cerca de 350 espécies (Landrum & Kawasaki, 1997). Segundo Bastos (2016), esse gênero foi dividido por Berg no ano de 1861 baseado no tipo de inflorescência que cada espécie apresentava: *Uniflorae*, *Biflorae*, *Glomeratae*, *Umbellatae*, *Corymbiflorae*, *Racemosae*, *Dichotomae*, *Racemosae*, *Phyllocalyx* e *Stenocalyx*.

De acordo com a descrição botânica, as plantas podem se apresentar tanto na forma de árvores, arbusto ou subarbustos perenes, sendo lenhosos na base ou com presença de xilopódio, podendo atingir de 3 a 12 metros de altura. Suas flores são em racemos, isoladas ou dicásios, antopódio presente, perfis livres que podem ser persistentes ou caducos. Os botões florais são abertos no ápice e apresentam quatro sépalas normalmente com tamanhos desiguais e pétalas tetrâmeras semelhantes com coloração branca ou rosa pálido, glabras. As anteras podem apresentar formato arredondado ou oblongo. O ovário é bilocular apresentando de 3 a 12 óvulos por lóculo. Os frutos podem ser do tipo baga globosa a elipsoide, apresentando diversas colorações, entre elas vermelhos, amarelados, alaranjados e até pretos quando maduros. O número de sementes pode variar de uma a três. O embrião é de coloração

verde ou creme, apresentando uma falsa divisória intercotiledonar ou cotilédones livres (Prata et al., 2013; Queiroz et al., 2015).

As espécies desse gênero se destacam principalmente pelo vasto potencial econômico, farmacológico, pela comercialização dos seus frutos, óleos essenciais e utilização como plantas ornamentais (Queiroz et al., 2015). É importante ressaltar que grande parte dessas espécies são utilizadas na medicina popular e avaliadas quanto suas atividades farmacológicas (Dias et al., 2012).

Muitas espécies brasileiras que pertencem ao gênero *Eugenia* já foram descritas quanto às áreas de ocorrência, uso, fenologia, informações ecológicas, características morfológicas, produção de mudas e obtenção de sementes, dentre elas encontra-se *E. dysenterica* DC. (cagaita), *E. florida* DC (pitanga), *E. glazioviana* Kiaersk. (guamirim), *E. sonderiana* O. Berg (guamirim), *E. brasiliensis* Lam. (grumixama), *E. involucrata* DC. (cerejeira), *E. leitonii* D. Legrand SP. Inéd. (goiabão), *E. monosperma* Vell. (cereja do brejo), *E. myrcianthes* Nied. (pêssego do mato), *E. oeidocarpa* O. Berg (cereja da serra), *E. pyriformis* Cambess. (uvaia), *E. uniflora* L. (pitanga), *E. robustovenosa* Kiaersk. (goiabão), *E. speciosa* Cambess. (laranjinha do mato), *E. uruguayensis* Cambess. (batinga vermelha), *E. candolleana* DC. (ameixa da mata), *E. cerasiflora* Miq. (mamona), *E. copacabanensis* Kiaersk. (Cambuí amarelo grande), *E. itaguahiensis* Nied. (guamixama mirim), *E. macrosperma* DC. (falso jabolão), *E. multicostata* D. Legrand (araçá piranga), *E. patrisii* Vahl (ubaia), *E. pluriflora* DC. (jabuticaba do campo), *E. ramboi* D. Legrand (batinga), *E. repanda* O. Berg (pitanga preta), *E. rostrifolia* D. Legrand (batinga) (Lorenzi, 2008; Lorenzi, 2009a; Lorenzi, 2009b).

O gênero *Eugenia* encontra-se bem representado nas diversas formações vegetacionais do Brasil. Na literatura existem trabalhos em que as espécies desse gênero se destacam nos levantamentos, principalmente pela sua vasta distribuição e pelo grande número de espécies existente, como, por exemplo, no levantamento florístico das matas de Restinga arenosa no Parque Estadual de Itapuã, no Rio Grande do Sul, em que foi encontrado um total de sete espécies da família Myrtaceae, sendo que quatro destas pertencem ao gênero *Eugenia* (*E. hiemalis* Cambess., *E. myrcianthes* Nied., *E. speciosa* Cambess., *E. uruguayensis* Cambess.) (Scherer et al., 2005).

Romagnolo e Souza (2006) estudando na planície alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, registraram espécies como, *E. egensis* DC., *E. florida* DC., *E. hyemalis* Cambess., *E. klappenbachiana* Mattos & D. Legrand, *E. moraviana* O. Berg, *E. pyriformis* Cambess., *E. ramboi* D. Legrand, *E. repanda* O. Berg., *E. sulcata* Spring. ex Mart. e *E. uniflora* L., sendo nos meses de setembro e novembro o período que foi encontrado o maior número de espécies em floração e frutificação.

No Estado Sergipe já existe literatura que descreve a flora do Estado, e, ao se tratar desse gênero, já foram identificadas espécies como, *Eugenia astringens* Cambess., *E. candolleana* DC., *E. brejoensis* Mazine, *E. cerasiflora* Miq., *E. excelsa* O. Berg, *E. hirta* O. Berg, *E. ligustrina* (Sw.) Willd., *E. puniceifolia* (HBK) DC., *E. rostrata* O. Berg, *E. schottiana* O. Berg, entre outras (Prata et al., 2013). Houve a realização da descrição botânica das espécies, fornecendo informações da distribuição geográfica, além da elaboração de uma chave de identificação para as plantas encontradas no Estado (Prata et al., 2013).

É importante ressaltar que, apesar do gênero *Eugenia* ser bem representado nos levantamentos, percebe-se que ainda existem espécies que apresentam poucas informações na literatura e precisam ser mais estudadas, principalmente quanto ao uso e comprovação do potencial econômico, como é o caso da *E. selloi* (O.Berg) B.D.Jacks. e *E. subreticulata* Glaz., ambos conhecidos localmente como uvaia.

2.2.1. *Eugenia selloi* (O. Berg) B. D. Jacks.

A *Eugenia selloi* (O. Berg) B. D. Jacks. é nativa, endêmica do Brasil, conhecida popularmente como pitangatuba. Essa espécie tem ocorrência nos domínios fitogeográficos da Mata Atlântica em tipos de vegetação de Floresta Ombrófila e Mata de Restinga, distribuída geograficamente nas regiões Sudeste principalmente na cidade do Rio de Janeiro (Sobral et al., 2015). Além disso, ocorre também, na região Nordeste no Estado de Sergipe.

Apesar de poucos relatos na literatura, essa espécie é caracterizada botanicamente por apresentar folhas de textura coreácea com forma elíptica ou oblonga, inflorescência do tipo racemos auxotélico com brácteas que se perdem ao decorrer do tempo, as flores são do tipo bractéolas persistentes, bem vistosas, apresentando quatro sépalas e pétalas, os frutos têm formato elipsoides normalmente com duas sementes e apresentam um embrião com cotilédone fundido (Sobral et al., 2015) (Figura 1)



Figura 1. Planta de *E. selloi* (A), com detalhe da flor (B) e do fruto (C), em indivíduo que ocorre no município de Brejo Grande, Sergipe.

2.2.2. *Eugenia subreticulata* Glaz

A *Eugenia subreticulata* Glaz., conhecida popularmente como uvaia e pitomba de cágado, é uma espécie nativa, endêmica do Brasil, distribuída geograficamente nas regiões Sudeste (Minas Gerais) e Nordeste (Bahia e Sergipe), com ocorrência no domínio da Mata Atlântica em tipos de vegetação Caatinga, Cerrado e Floresta Ombrófila (Prata et al., 2013; Sobral et al., 2015).

Essa espécie é caracterizada botanicamente como: árvore que não apresenta pelos tricomas ou estruturas similares na sua superfície externa exceto nos ramos jovens, lobos do cálice, brácteas, bractéolas, hipanto e bagas estrigosos. Os tricomas são rígidos com coloração dourado-acastanhados. As folhas são pecioladas com lâminas membranáceas, formato elíptico-oblôngas, base aguda ou atenuada, e quando jovens apresentam uma coloração verde-amareladas. Os botões florais apresentam um formato piriforme, com bractéolas rudimentares, lineares. Os frutos são bagas que podem apresentar coloração amarela, laranja e vermelha que

varia de acordo com seu amadurecimento e podem apresentar forma arredondado ou mais raro largo-elíptico (Prata et al., 2013) (Figura 2).



Figura 2. Planta de *E. subreticulata* (A) e frutos (B), em indivíduos que ocorrem no município de Poço Redondo, Sergipe.

2.3. Diversidade Química de Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são produtos vegetais naturais que entre suas qualidades apresentam propriedades biológicas, ou seja, exercem uma ação específica sobre humanos, animais e outras plantas. São constituídos por uma mistura compostos voláteis (mono- e sesquiterpenoides, benzenóides, fenilpropanóides, etc) (Baser & Buchbauer, 2015), com potenciais usos nas indústrias para formulação de novos produtos (Souza, 2015), o que torna importante seu estudo.

O conhecimento da diversidade química dos óleos essenciais pode auxiliar no estabelecimento de estratégias de conservação, programas de melhoramento genético, além de ser útil em estudos de potencialidades fitopatológicas, entomológicas, medicinais dentre outras (Nizio et al., 2015; Sampaio et al., 2016; Oliveira et al., 2017; Melo et al., 2018).

Na literatura existem diversas pesquisas caracterizando a diversidade química dos óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae, (Duarte et al., 2010; Demuner et al., 2011; Duarte et al., 2012; Sampaio et al., 2016; Alves et al., 2016b). Nessa família encontram-se espécies que produzem um dos óleos essenciais mais comercializados no mundo, se destacando o Eucalipto tipo cineol (*Eucalyptus globulus* Labill., *E. polybractea* R.T. Baker, *E. spp.*) e o Eucalipto tipo citronela (*E. citriodora* Hook.). Os óleos essenciais de Eucalipto possuem aplicação medicinal, industrial e podem ser utilizados em perfumaria. São exportados para diversos lugares do mundo gerando milhões de dólares (Bizzo et al., 2009).

Estudo realizado em populações nativas de *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae) no Estado de Sergipe demonstrou alta diversidade química entre os compostos dos óleos essenciais, e atividade fungicida contra *Fusarium solani* (Sampaio et al., 2016). Em população de *Myrcia lundiana* Kiaersk. também foram encontradas variações na composição química do óleo essencial, apresentando 1,8-cineol, ácido nerólico, neral, geranial, isopulegol e iso-isopulegol como principais compostos (Alves et al. 2016b).

O gênero *Eugenia* é um dos maiores da família Myrtaceae (Dias et al., 2012). As espécies desse gênero têm sido amplamente estudadas devido à diversidade química presente nos seus óleos essenciais. Das plantas estudadas até hoje, já foram identificados mais de 300

compostos químicos, sendo que 69 desses compostos estão presentes em quantidades significativas (Stefanello et al., 2011).

O α -pineno, β -pineno, β -cariofileno, espatulenol e o limoneno são os compostos que se apresentam em maior quantidade nos óleos essenciais da maioria das espécies do gênero *Eugenia*, podendo destacar ainda a outros metabólitos como taninos, flavonoides, triterpenoides (Queiroz et al., 2015). Os compostos aromáticos e alifáticos são produzidos por um número reduzido de espécies (Stefanello et al., 2011). A *E. stigmatica* é uma das espécies que na literatura apresentam óleos essenciais completamente incomuns, apresentando compostos alifáticos, ácido feterítico a mais de 90% (Apel et al., 2004).

Nos óleos essenciais das espécies do gênero *Eugenia*, além da grande variabilidade de quimiotipos, já foram comprovadas diversas atividades, dentre elas, atividade antibacteriana, antifúngica, antidiarreica, antioxidante, entre outras (Queiroz et al. 2015). Tais características tornaram os óleos essenciais com grande valor comercial, podendo ser utilizados nas indústrias farmacêuticas, de alimentos, produção de cosméticos, no setor agrícola.

Apesar do grande número de pesquisas publicadas envolvendo composição química, atividade biológica e derivatização dos óleos essenciais de diversas espécies, percebe-se que há muito o que se explorar quando se leva em conta a riqueza e a diversidade da flora brasileira que é considerada uma das maiores do mundo (Silva et al., 2014), desta forma, a caracterização de espécies selvagens aromáticas e medicinais é importante, além disso, entender os fatores que geram essa diversidade química pode abrir caminhos para a obtenção de óleos essenciais com características desejáveis.

2.4. Diversidade genética de plantas aromáticas

O Brasil é um dos países mais ricos do mundo em recursos biológicos e apresenta uma grande diversidade de espécies com grande potencial, no entanto, com o aumento da fragmentação dos ecossistemas, a conservação dos recursos genéticos tem se tornado prioridade, principalmente pela redução das populações e perda da diversidade genética (Costa et al., 2009; Aguiar et al., 2013).

A diversidade genética pode ser definida como a variação de sequências genômicas nos indivíduos de uma mesma espécie (Hartl & Clark, 2010). Segundo Hughes et al. (2008), as terminologias usadas para descrever a diversidade genética, geralmente, são riqueza alélica, heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e), tamanho efetivo da população, diversidade de nucleotídeos, porcentagem de loci polimórficos, coeficiente de variância genética, herdabilidade. Esses parâmetros são capazes de quantificar o tamanho da variabilidade genética dentro de uma população.

O estudo da diversidade genética pode identificar alelos que sejam capazes de proporcionar ao organismo sobreviver nos ambientes mais diferentes ou identificar alelos que possam afetar a capacidade de o organismo sobreviver em seu habitat. Esta informação é de suma importância para a conservação de germoplasma, identificação de indivíduos, populações, variedades ou raças com características superiores (Duran et al., 2009).

O conhecimento da variabilidade genética de espécies nativas é fundamental, principalmente para que haja a domesticação, incorporação nos sistemas produtivos regionais e até mesmo para êxito de uma estratégia de conservação (Costa et al., 2011). No estudo realizado por Rossi et al. (2014), percebeu-se que para preservar a diversidade genética é necessário conservar diversos indivíduos de uma espécie dentro das populações naturais, possibilitando assim a manutenção da variabilidade genética e a conservação efetiva dessas populações.

Tratando-se do estudo de diversidade genética em espécies aromáticas, Aguiar et al. (2013), realizando pesquisas em populações de pitanga (*Eugenia uniflora*) em remanescentes florestais, pôde levantar informações sobre a dinâmica e o funcionamento da população, para conservação e o uso sustentável da espécie. Já Alves et al. (2016a), analisando plantas de

Myrcia lundiana em uma população nativa, conseguiram identificar plantas para a conservação e que possivelmente poderiam ser utilizadas em programa de melhoramento, uma vez que a espécie produz óleo essencial e alguns indivíduos apresentaram em seu genoma a diversidade genética de todo grupo de plantas estudadas.

Estudos de diversidade genética realizados por Almeida-Pereira et al. (2017) em quatro populações nativas de *Croton tetradenius* Baill, espécie com potencial inseticida e medicinal, forneceram informações para a seleção de genótipos para o banco de germoplasma de plantas medicinais e aromáticas da Universidade Federal de Sergipe.

As relações entre indivíduos, populações, variedades ou raças, assim como informações a respeito da diversidade genética são relevantes, pois, a partir delas, é possível aprimorar as atividades em programas de conservação de germoplasma ou de melhoramento genético. Esses conhecimentos contribuem também para a conservação biológica das espécies e para futuros estudos de evolução e ecologia de populações (Duran et al., 2009).

Atualmente existem diversos métodos disponíveis que permitem a avaliação da diversidade genética em nível de DNA. Esses métodos são baseados nas técnicas de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que permitem amplificar sequências específicas do DNA, determinando seu polimorfismo genético através de um número limitado de marcadores moleculares (Frankham et al., 2008; Lima et al., 2015).

2.4.1. Marcadores Moleculares ISSR

Com os avanços da biotecnologia, o surgimento dos marcadores moleculares possibilitou a diferenciação genotípica de forma hábil, pois permite o estudo da variabilidade genética em nível de DNA (Souza, 2015). Os marcadores moleculares podem ser utilizados em estudos de diversidade genética, caracterização de variedades, linhagens ou híbridos na proteção de cultivares, identificação de acessos duplicados em bancos de germoplasma, além disso, eles podem auxiliar em estudos de filogenias, diagnose de doenças entre outros (Aguilar, 2012).

Dentro dos diversos tipos de marcadores moleculares existentes, o ISSR (Inter Simple Sequence Repeat – sequências simples repetidas internas), foi desenvolvido a partir da necessidade de explorar repetições microssatélites sem a necessidade do conhecimento prévio do sequenciamento do DNA da espécie-alvo (Zietkiewicz et al., 1994). O marcador ISSR tem sido descrito como eficiente para avaliar a diversidade genética tanto entre como dentro de populações (Rossi et al., 2014; Chagas et al., 2015) são considerados eficazes, devida a detecção do elevado grau de polimorfismo e por ser uma técnica de baixo custo (Borba et al., 2005).

O marcador ISSR, apesar de ser semelhante ao RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* - polimorfismo de DNA amplificado ao acaso), pois ambos aplicam sequências aleatórias no genoma, é tido como mais reproduzível (Guimarães et al., 2009). Ramalho et al. (2016) empregaram marcadores ISSR na espécie *Bertholletia excelsa* Bonpl., e esses marcadores possibilitaram identificar a variabilidade genética entre os indivíduos, para inferir a melhor forma de conservação, além de reconhecer os genótipos mais divergentes que podem ser priorizados na coleta de germoplasma e utilizados em futuros programas de melhoramentos.

Marcadores ISSR têm sido utilizados em estudos de diversidade genética em diversas espécies; *Capsicum* spp. (Moulin et al., 2013); *Malpighia emarginata* (Lima et al., 2015); *Elaeis guineensis* (Pontes et al., 2015); *Theobroma grandiflorum* (Silva et al., 2016); *Bertholletia excelsa* (Ramalho et al., 2016); *Myrcia lundiana* (Alves et al., 2016a). No entanto, apesar de existirem pesquisas na literatura utilizando marcadores moleculares ISSR em plantas da família Myrtaceae, percebe-se que ainda não existe estudo com as espécies *Eugenia selloi* e *Eugenia subreticulata*, sendo este um dos fatos que justifica a realização dessa pesquisa.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, M. S. Marcadores moleculares como ferramenta no melhoramento genético de plantas. In: SILVA, A. V. C. **I Ciclo de Palestras sobre Uso de Marcadores Moleculares na Pesquisa Agropecuária**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 70p.

AGUIAR, R. V.; CANSIAN, R. L.; KUBIAK, G. B.; SLAVIERO, L. B.; TOMAZONI, T. A.; BUDKE, J. C.; MOSSI, A. J. Variabilidade genética de *Eugenia uniflora* L. em remanescentes florestais em diferentes estádios sucessionais. **Ceres**, v. 60, n. 2, p. 226-233, 2013.

ALMEIDA-PEREIRA, C. S.; SILVA, A. V. C.; ALVES, R. P.; FEITOSA-ALCANTARA, R. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ALVARES-CARVALHO, S. V.; COSTA, T. S.; WHITE, L. A. S.; PINTO, V. S.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F. Genetic diversity of native populations of *Croton tetradenius* Baill. using ISSR markers. **Genetics and molecular research**, v. 16, n. 62, p. 1-12, 2017.

ALVES, M. F.; NIZIO, D. A. C.; SAMPAIO, T. S.; NASCIMENTO JUNIOR, A. F.; BRITO, F. A.; MELO, J. O.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; GAGLIARDI, P. R.; MACHADO, S. M. F.; BLANK, A. F. *Myrcia lundiana* Kiaersk native populations have different essential oil composition and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 266-273, 2016b.

ALVES, M. F.; NIZIO, D. A.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, T. S.; SILVA, A. V.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; CARVALHO, S. V. A.; BLANK, A. F. Analysis of genetic diversity of a native population of *Myrcia lundiana* Kiaersk. plants using ISSR markers. **Genetics and molecular research**, v. 15, n. 4, p. 1-10, 2016a.

APEL, M. A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M. Chemical composition of the essential oils of *Eugenia hymalis* and *Eugenia stigmatisata*. Part VI: section Biflorae. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, n.5, p. 437-439, 2004.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. CRC Press, 2015. 994p.

BASTOS, R. G. **Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades biológicas dos extratos obtidos das folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae)**. 2016. 180 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas. Alfenas - MG, 2016.

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

BORBA, R. DE S.; GARCIA A, M. S.; KOVALLESKI, A.; OLIVEIRA, A. C.; ZIMMER, P. D.; BRANCO, J. S. C.; MALONE, G. Dissimilaridade genética de linhagens de *Trichogramma Westwood* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) através de marcadores moleculares ISSR. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 565-569, 2005.

CHAGAS, K. P. T.; SOUSA, F. R.; FAJARDO, C. G.; VIEIRA, A. F. Seleção de marcadores ISSR e diversidade genética em uma população de *Elaeis guineensis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 147-152 2015.

COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, F. V. D.; LUNA, J. V. U.; CASTELLEN, M. S.; WELITON ANTÔNIO BASTOS DE ALMEIDA, W. A. B.; SIMONE ALVES SILVA; S. A.; DANTAS; A. C. V. L. Conservação de fruteiras potenciais para o nordeste brasileiro. **Tópicos em ciências agrárias**. Cruz das Almas: Nova Civilização, v. 1, 2009, 296p.

COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; SANTOS, A. R. F.; SILVA JÚNIOR, J. F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.46, n.5, p.499-508, 2011.

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

DIAS, C. N.; RODRIGUES, K. A. F.; RESPLANDES, S. M.; AGUIAR, L. R.; AMARAL, F. M. M.; MORAES, D. F. C. Caracterização farmacobotânica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE) coletadas em São Luís-MA, Brasil. **Revista Ciência e Saúde**, v.14, n.2, p. 95-102, 2012.

DOBEŠ, C.; KONRAD, H.; GEBUREK, T. Potential population genetic consequences of habitat fragmentation in central european forest trees and associated understorey species - An introductory survey. **Diversity**, v.9, p. 1-24, 2017.

DUARTE, A. R.; NAVES, R. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Genetic and environmental influence on essential oil composition of *Eugenia dysenterica*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, p. 1459-1467, 2010.

DUARTE, A. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Influence of spatial, edaphic and genetic factors on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 4, p. 737-746, 2012.

DURAN, C.; APPLEBY, N.; EDWARDS, D.; BATHEY, J. Molecular Genetic Markers: Discovery, Applications, Data Storage and Visualization. **Current Bioinformatics**. Roma, v. 4, n. 1, p. 16-27, 2009.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de genética da conservação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. 208p.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B.K.; LANDRUM, L.R.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.F.; NIC LUGHADHA, E.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L.H.; WILSON P.G.; LUCAS, E. **World Checklist of Myrtaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew**. 2017 Disponível em: <<http://www.kew.org/wcsp/>>. (Acesso em 27-09-2017).

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001. 15p.

GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J. D.; LANZA, M. A.; SCHUSTER, I. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v.30, n. 253, p. 86-95, 2009.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 660p.

HUGHES, A. R., B. D.; INOUE, M. T. J.; JOHNSON, N.; UNDERWOOD, M. VELLEND. Ecological consequences of genetic diversity. **Ecology Letters**, v. 11, p.609-623, 2008.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal – Um enfoque filogenético**. 3ª ed. Editora Artmed, Porto Alegre, 2009. 632p.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Plant systematics: a phylogenetic approach**, 2nd edition. Massachusetts: Sinauer Associates. 2002. 575p.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant systematics a phylogenetic approach**. Sunderland, Sinauer Associates. 1999. 576p.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v.49, n.4, p.508-536, 1997.

LIMA, E. N.; ARAUJO, M. E. B.; MAGALHÃES BERTINI, C. H. C.; MOURA, C. F. H.; HAWERROTH, M. C. Diversidade genética de clones de aceroleira avaliada por meio de marcadores moleculares ISSR. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 174-180, 2015.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Instituto Plantarum: Nova Odessa Vol 1 – 5. Ed, 2008. 384 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Instituto Plantarum: Nova Odessa Vol 2 – 3. Ed, 2009a. 384 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Instituto Plantarum: Nova Odessa Vol 3 – 1. Ed, 2009b. 384 p.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2006. 627p.

MELO, C. R.; PICANÇO, M. C.; SANTOS, A. A.; SANTOS, I. B.; PIMENTEL, M. F.; SANTOS, A. C.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A. ; CRISTALDO, P. F. ; BACCI, L. Toxicity of essential oils of *Lippia gracilis* chemotypes and their major compounds on *Diaphania hyalinata* and non-target species. **Crop Protection**, v. 104, p. 47-51, 2018.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

MOULIN, M. M.; OLIVEIRA, F. L.; BIANCHI, P. A.; PIMENTA, S.; RODRIGUES, R. Uso de marcadores ISSR para estimar a diversidade genética entre acessos de pimenta coletados no sul do estado do Espírito Santo. **Biológicas & Saúde**, v. 3, n. 10, p. 35-43, 2013.

NIZIO, D. A. C.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, T. S.; MELO, J. O.; SILVA, F. L. S.; GAGLIARDI, P. R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANJOS, C. S.; ALVES, P. B.; WISNIEWSKI-JUNIOR, A.; BLANK, A. F. Chemical diversity of native populations of

Varronia curassavica Jacq: and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 437–448, 2015.

OLIVEIRA, A. P.; SANTANA, A. S.; SANTANA, E. D. R.; LIMA, A. P. S.; FARO, R. R. N.; NUNES, R. S.; LIMA, A. D.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; CRISTALDO, P. F.; BACCI, L. . Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 198-205, 2017.

PONTES T. C. K.; FERREIRA S. R.; FAJARDO, C. G.; ALMEIDA, V. F. Seleção de marcadores ISSR e diversidade genética em uma população de *Elaeis guineensis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p.147-152, 2015.

PRATA, A. P. N.; AMARAL, M. C. E.; FARIAS, M. C. V.; ALVES, M. V. **Flora de Sergipe**. Ed. Triunfo, v.1, 2013. 592p.

QUEIROZ, J. M. G.; SUZUKI, M. C. M.; MOTTA, A. P. R.; NOGUEIRA, J. M. R.; CARVALHO, E. M. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 9, n. 2, p. 87-100, 2015.

RAMALHO, A. B.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. F. E.; ZORTÉA, K. É. M.; TIAGO, A. V.; MARTINS, K. C. Diversidade genética entre genótipos de *Bertholletia excelsa* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Floresta**, v. 46, n. 2, p. 207-214, 2016.

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

ROSSI, F. S.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; BRAUWERS, L. R.; SILVA, M. L. D.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f.(Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. **Scientia Forestalis**, v. 42, n. 104, p. 631-639, 2014.

SAMPAIO, T. S.; NIZIO, D. A. C.; WHITE, L. A. S.; MELO, J. O.; ALMEIDA, C. S.; ALVES, M. F.; GAGLIARDI, P. R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; JUNIOR, A. W.; SOBRAL, M. E. G.; BLANK, A. F. Chemical diversity of a wild population of *Myrcia ovata* Cambessedes and antifungal activity against *Fusarium solani*. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 196-209, 2016.

SCHULTZ, A. R. **Botânica sistemática**. Ed. Globo 3. ed, v.2, 1968. 427p.

SHERER, A.; MARASCHIN-SILVA, F.; BAPTISTA, L. R. M. Florística e estrutura do componente arbóreo de matas de Restinga arenosa no Parque Estadual de Itapuã, RS, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.19, n.4, p.717-726, 2005.

SILVA, A. P. G.; SOUZA, C. C. E.; RIBEIRO, J. E. S.; SANTOS, M. C. G.; PONTES, A. L. S.; MADRUGA, M. S. Características físicas, químicas e bromatológicas de palma gigante (*Opuntia ficus-indica*) e miúda (*Nopalea cochenillifera*) oriundas do Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.9, n.2, p.1810-1820, 2015.

SILVA, B. M.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; ARAUJO, V. A. A. C.; ROSSI, F. S.; DE OLIVEIRA, L. O.; CLARINDO, W. R. Diversidade genética estimada com marcadores entre sequências simples repetidas em cultivos comerciais de Cupuaçuzeiro. **Ciencia Rural**, v. 46, n. 1, p. 108-113, 2016.

SILVA, F. F. M.; MOURA, L. F.; BARBOSA, P. T.; FERNANDES, A. B. D.; BERTINI, L. M.; ALVES, L. A. Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) obtido através de extrator por arraste com vapor d'água construído com matérias de fácil aquisição e baixo custo. **Holos**, v. 30, n. 4, p. 144, 2014.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. *Myrtaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. (Acesso em 27-09-2017).

SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.3, p.495-503, 2015.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2ª ed., SP, Instituto Plantarum, Nova Odessa; 2008. 704p.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **Chemistry & Biodiversity**, v.8, p.73-94, 2011.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, n.2, p.176- 183, 1994.

4 ARTIGO 1: ANÁLISE DA DIVERSIDADE QUÍMICA E GENÉTICA DE *Eugenia* spp. (MYRTACEAE)

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo analisar a diversidade química dos óleos essenciais e a diversidade genética de 31 plantas do gênero *Eugenia* que apresentam características morfológicas semelhantes e que estão localizadas em três municípios do Estado de Sergipe, Brasil. As análises foram feitas utilizando o GC/FID e ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat), respectivamente. No total, 30 compostos foram identificados nos óleos essenciais, que se distribuíram dentro dos grupos químicos, independentemente do local de coleta. Pela análise de agrupamento, houve a formação de quatro grupos. O grupo 1, constituído por 4 plantas, caracterizou-se por apresentar alto teor de α -copaeno (19,06-22,91%), (E)-cariofileno (17,58-21,37%), germacreno D (11,55-14,28%) e δ -cadineno (9,01-11,17%). O grupo 2, constituído por 11 plantas, apresentou δ -elemeno (2,60-21,18%), germacreno D (6,58-22,13%) e/ou biciclogermacreno (0-26,36%) como os principais compostos. O grupo 3, constituído por 9 plantas se caracterizou por apresentar espatulenol (18,09-49,61%) e/ou (E)- β -elemenona (0-30,15%) e muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol (5,58-13,35) como compostos majoritário. O grupo 4, constituído por 7 plantas apresentando espatulenol (2,68-25,62) e (E)- β -elemenona (35,21-49,05%) como os principais compostos. Nas análises moleculares, a diversidade genética de Nei (H_E) variou de 0,25 a 0,29, com valor médio de 0,27 entre as plantas *Eugenia* spp. O índice de Shannon (I) obtido variou de 0,37 a 0,44, com média de 0,40. O método UPGMA (método de grupo de pares não ponderado com média aritmética) auxiliou na classificação das espécies, dividindo as plantas em dois grupos, com uma evidente separação entre *E. selloi* e *E. subreticulata*, mostrando-se bem diferente do agrupamento químico. O conhecimento da diversidade química e diversidade genética de *E. selloi* e *E. subreticulata*, ilustrado neste estudo, pode contribuir para a conservação e utilização de recursos destas espécies, além de auxiliar em novos estudos para teste de potencialidades medicinais, farmacológicas, fitopatológicas, entre outros.

Palavras-chave: *Eugenia selloi*, *Eugenia subreticulata*, óleo essencial, marcador molecular ISSR, conservação.

4.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado o país com a maior biodiversidade vegetal do mundo e apresenta cerca de 55.000 espécies catalogadas (Silva et al., 2015). Dentre as pesquisas realizadas com espécies aromáticas e/ou medicinais, os estudos da diversidade química e genética são importantes, pois fornecem informações para uso e conservação dos recursos vegetais (Rustaiie et al., 2013; Celestino et al., 2015).

O conhecimento da diversidade química dos óleos essenciais, além de permitir identificar os quimiotipos que as plantas apresentam, também impulsiona pesquisas relacionadas à investigação de potenciais atividades fitopatológicas, entomológicas, medicinais entre outras (Nizio et al., 2015; Sampaio et al., 2016), assim como a diversidade genética possibilita reconhecer as plantas com prioridades de conservação, para serem utilizadas em programa de melhoramento genético (Alves et al., 2016a), além de identificar a variabilidade tanto entre como dentro de populações (Álvares-Carvalho et al., 2016).

A família Myrtaceae apresenta plantas aromáticas com óleos essenciais que podem ser utilizados nas indústrias de diversos setores (Bizzo et al., 2009). O gênero *Eugenia*, um dos maiores da família Myrtaceae (Dias et al., 2012), tem sido amplamente estudado por apresentar espécies com potencial econômico, farmacológico e uma grande diversidade química presente nos seus óleos essenciais (Queiroz et al., 2015). Segundo Stefanello et al. (2011), já foram identificados mais de 300 compostos nas espécies desse gênero. Além disso, atividades biológicas já foram descritas para seus óleos essenciais, dentre elas, antioxidante e antifúngica [*Eugenia caryophyllata* L. Merr. & Perry (Chaieb et al., 2007)]; atividade bacteriostática [*Eugenia pyriformis* Cambess. (Stieven et al., 2009)]; antileishmania [*Eugenia uniflora* L. (Rodrigues et al., 2013)]; atividade antidiarreica [*Eugenia dysenterica* DC. (Galheigo et al., 2015)].

A caracterização química e agrônômica em plantas aromáticas e medicinais permite distinguir os genótipos, no entanto, a composição dos óleos essenciais pode ser alterada por fatores ambientais, com isso, o uso de ferramentas moleculares torna-se essencial e complementar na caracterização da diversidade genética dessas plantas (Celestino et al. 2015).

Estudos de diversidade genética em plantas são frequentemente realizados utilizando marcadores moleculares (Alves et al., 2016a). Dentre os principais tipos de marcadores, o ISSR tem sido descrito como eficiente para avaliar a diversidade genética, tanto entre como dentro de populações (Rossi et al., 2014; Chagas et al., 2015), além de eficazes, devido a detecção do elevado grau de polimorfismo e por ser uma técnica de baixo custo (Borba et al., 2005).

Estudos comprovaram a eficiência dos marcadores moleculares ISSR na identificação da variabilidade genética em *Myrcia larutoteana* Cambess. (Lima et al., 2014), *Eucalyptus cladocalyx* F. Muell (Ballesta et al., 2015), *Myrcia lundiana* Kiaersk (Alves et al., 2016a), *Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum (Santos et al., 2016), as quais também são espécies da família Myrtaceae.

Existem espécies frutíferas do gênero *Eugenia* no Estado de Sergipe conhecidas popularmente como Uvaia que compartilham características morfológicas semelhantes, cujos frutos são consumidos in natura e utilizados na produção de sucos, sorvetes, doces, licores, geleias, no entanto, essas espécies nunca foram estudadas quanto à diversidade genética e quanto à composição química dos seus óleos essenciais.

É importante ressaltar que essas espécies do gênero *Eugenia*, além de estarem situadas em áreas fragmentadas, estão com suas populações cada vez menores devido à expansão urbana e implantação de pastagem nas áreas de ocorrência. Todos esses fatores podem acarretar na redução da variabilidade genética (Dobeš et al., 2017) e consequentemente perda de compostos promissores que podem ser úteis ao homem e muitas vezes nem chegam a ser conhecidos.

Desta forma, o objetivo desse estudo foi analisar a diversidade química dos óleos essenciais e a caracterização genética de populações nativas de plantas conhecidas como uvaia (*Eugenia* spp.) no Estado de Sergipe.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Áreas de estudo e material vegetal

Foram estudadas três populações nativas de plantas popularmente conhecidas como uvaia (*Eugenia* spp.) encontrados em três municípios do Estado de Sergipe, Brasil (Figura 1).

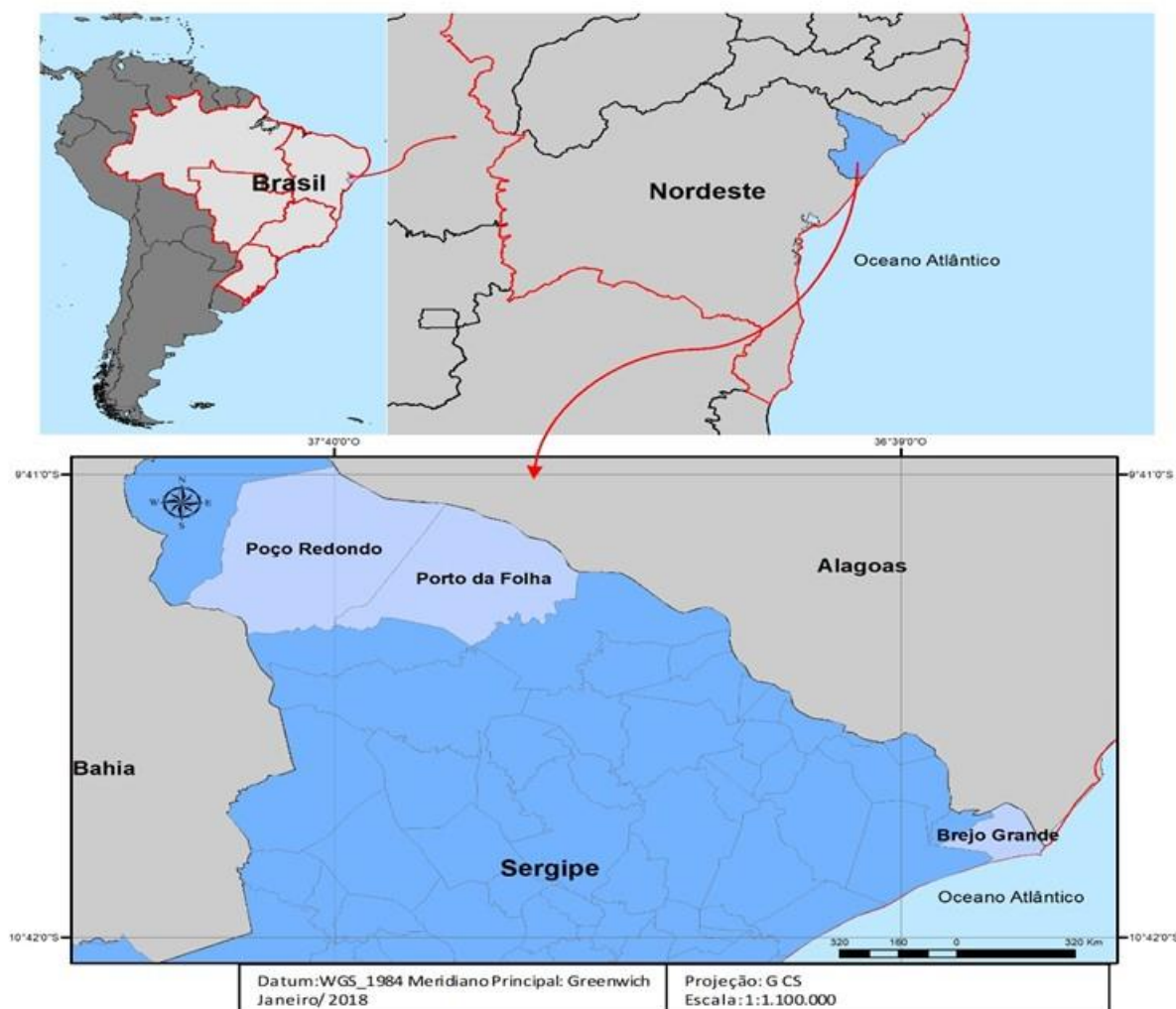


Figura 1. Mapa com a localização das plantas do gênero *Eugenia* coletadas em populações naturais no Estado de Sergipe, Brasil.

As populações 1 e 2 foram compostas por indivíduos localizadas no domínio do bioma Caatinga nos municípios de Poço Redondo e Porto da Folha, respectivamente. A população 3 foi composta por indivíduos localizados em Mata de Restinga no município de Brejo Grande (Tabela 1), totalizando 31 plantas. A identificação das espécies foi feita pelo taxonomista de Myrtaceae, professor Dr. Marcos Eduardo Guerra Sobra

Tabela 1. Identificação das plantas de *Eugenia* spp. coletadas em três locais do Estado de Sergipe, Brasil.

Código da planta	Pop.	N	Origem (Município, povoado)	Informações georreferenciadas
EUG 001-007	1	07	Poço Redondo, Serra da Guia	9° 57' 49.9"S 37° 51' 41.0"W; 9° 57' 48.5"S 37° 51' 41.1"W 9° 57' 45.9"S 37° 51' 39.4"W; 9° 57' 48.2"S 37° 51' 40.8"W 9° 57' 52.9"S 37° 51' 44.9"W; 9° 57' 49.8"S 37° 51' 41.5"W 9° 57' 48.1"S 37° 51' 39.8"W
EUG 101-112	2	12	Porto da Folha, Lagoa do Rancho	9° 58' 46.9"S 37° 27' 5.9"W; 9° 58' 48.6"S 37° 27' 7.0"W 9° 58' 48.5"S 37° 27' 7.7"W; 9° 58' 48.0"S 37° 27' 10.6"W 9° 58' 46.4"S 37° 27' 8.5"W; 9° 58' 44.4"S 37° 27' 6.9"W 9° 58' 42.5"S 37° 27' 8.3"W; 9° 58' 42.4"S 37° 27' 8.4"W 9° 58' 42.4"S 37° 27' 7.6"W; 9° 58' 52.8"S 37° 27' 9.2"W 9° 58' 46.6"S 37° 26' 47.5"W; 9° 58' 53.3"S 37° 26' 34.8"W
EUG 201-212	3	12	Brejo Grande, Brejo dos Negros	10° 48' 24.6"S 36° 46' 43.5"W; 10° 48' 28.9"S 36° 46' 50.1"W 10° 48' 30.0"S 36° 46' 53.9"W; 10° 48' 31.9"S 36° 46' 54.5"W 10° 48' 29.8"S 36° 46' 56.3"W; 10° 48' 29.3"S 36° 46' 55.8"W 10° 48' 30.2"S 36° 45' 95.2"W; 10° 48' 30.4"S 36° 45' 96.7"W 10° 48' 31.2"S 36° 45' 90.8"W; 10° 48' 32.8"S 36° 45' 89.5"W 10° 48' 33.2"S 36° 45' 83.9"W; 10° 48' 33.0"S 36° 45' 79.0"W

Para o estudo de diversidade química, folhas de todos os indivíduos foram coletadas entre o mês de agosto e setembro. As folhas foram colocadas em sacos de papel devidamente identificados e transportadas para o Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais e Óleos Essenciais do Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brasil, onde foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 40°C durante cinco dias. Para análise molecular, as folhas de cada indivíduo foram coletadas e colocadas em sacos plástico com sílica, selados e identificados, em seguida armazenadas em freezer a -20°C até o momento da extração do DNA.

4.2.2. Extração e análise da composição química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais das 31 plantas foram extraídos por meio de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger adaptado. Amostras de 50g de folhas secas, em triplicata, foram destiladas por 120 minutos em 2 litros de água. Os óleos essenciais obtidos foram armazenados em frascos de vidro âmbar com tampas seladas e guardados em freezer na temperatura de -20°C.

As análises da composição químicas dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química (DQUI/UFS), utilizando um aparelho de Cromatografia Gasosa acoplado à Espectrometria de Massas e Detector de Ionização por Chama - CG/EM/DIC (GCMSQP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um amostrador com injeção automática AOC-20i (Shimadzu). As separações foram realizadas em uma coluna capilar de sílica fundida Rtx®-5MS Restek (5%-difenil-95%-dimetilpolisiloxano) 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 mm de espessura de filme, em um fluxo constante de gás hélio 5.0 com taxa de 1,0 mL.min⁻¹. A temperatura de injeção foi de 280°C, 1,0 µL (10 mg mL⁻¹) de amostra a ser injetada, com uma razão de *split* de 1:30. A programação de temperatura do forno iniciará a partir de 50°C (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de 4°C min⁻¹, até atingir 200°C. Em seguida, aumentará a cada 10°C min⁻¹ até atingir 300°C, permanecendo, então, por 5 min.

Para o CG/EM as moléculas foram ionizadas por ionização por elétrons com energia de 70 eV. Os fragmentos foram analisados por um sistema quadrupolar programado para filtrar fragmentos/íons com *m/z* na ordem de 40 a 500 Da e detectados por um multiplicador de elétrons. O processamento de dados foi realizado com software CGMS Postrun Analysis (Labsolutions- Shimadzu). O processo de ionização para o CG/DIC foi realizado pela chama proveniente dos gases hidrogênio 5.0 (30 mL min⁻¹) e ar sintético (300 mL min⁻¹). As espécies coletadas e a corrente elétrica gerada foram amplificadas e processadas. O processamento de

dados foi realizado utilizando o software CG Postrun Analysis (Labsolutions- Shimadzu). A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada com base na comparação dos índices de retenção da literatura (ADAMS, 2007).

Para o índice de retenção foi utilizada a equação de Van Den Dool e Kratz (1963) em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos (*n*C9- *n*C18). Além disso, também foram utilizadas bibliotecas do equipamento WILEY8, NIST107 e NIST21 que permitem a comparação dos dados dos espectros com aqueles constantes das bibliotecas utilizando um índice de similaridade de 80%.

4.2.3. Extração do DNA e amplificação PCR-ISSR

O DNA foi extraído pelo método descrito por Nienhuis et al. (1995), com modificações. Foram utilizados 10 primers ISSR (Tabela 4). A PCR foi realizada em um volume total de 12 µL contendo 1,5 µL de DNA diluído (5 ng / µL), tampão Green Gota q 5X (Promega); dNTPs (2,5 mM); MgCl₂ (50 mM); BSA (1 µg/ µL); enzima *Taq* polimerase (3,5 µL) (Promega); *primer* (2 µL) e 3,0 µL de água ultrapura. A amplificação foi realizada em termociclador (PTC-100, MJ Research Inc., Quebec, Canadá) com o programa de 90 segundos a 94°C para a desnaturação inicial; 35 ciclos de desnaturação durante 45 segundos a 94°C; Anelamento durante 30 segundos à temperatura específica indicada para cada *primer* (iniciador); 90 segundos para a extensão a 72 °C, seguido por um ciclo de extensão final de 72 °C durante 5 minutos. Os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose 1,5% (1X TBE: Tris 89 mM, ácido bórico 89 mM, EDTA 2,5 mM, pH 8,3), após corridas eletroforéticas realizadas a 120V durante 2 horas. O gel foi corado com corante GelRed®, visualizado sob luz UV e fotografados por um fotodocumentador (Locus Labimage 1.0).

4.2.4. Análise dos dados

A partir dos dados obtidos das análises dos constituintes químicos dos óleos essenciais, foram realizadas duas análises multivariadas, análise de agrupamento e análise de componentes principais (ACP) usando o software Statistica. Em seguida, uma matriz de dissimilaridade foi construída com base na constituição química dos óleos essenciais de cada planta com base em suas distâncias euclidianas. A matriz de dissimilaridade foi simplificada com dendrogramas usando o método de agrupamento de Ward, além disso, foi realizada análise de correlação entre todos os constituintes químicos do óleo essencial das plantas amostradas. Para os resultados do teor dos óleos essenciais, os dados foram submetidos à análise de variância, comparados pelo teste Scott-Knott a 5 %, sendo as análises realizadas pelo programa Sisvar 4.2 (Ferreira, 2003). Diante da descoberta das plantas do gênero *Eugenia* se tratarem de duas espécies (*Eugenia subreticulata* Glaz. e *Eugenia selloi* (O. Berg) B.D.Jacks.), realizou-se as análises multivariadas separadamente para cada uma delas como descrito acima.

Na análise dos dados moleculares, os fragmentos ISSR gerados pela eletroforese foram convertidos em uma matriz binária, com base na presença (1) ou ausência (0) da banda. Apenas as faixas dos fragmentos visíveis foram utilizadas. Foi estimado o número ótimo de fragmentos selecionando a menor população para obter o valor de estresse pelo software GENES (Cruz, 2013). Os índices de diversidade genética de Nei (H_E) e o índice de Shannon (I) foram calculados pelo programa Genalex. O coeficiente de similaridade foi calculado entre cada par de indivíduo utilizando o índice de Jaccard (Jaccard, 1908). Para a construção de um dendrograma, pelo método do grupo de pares não ponderado com média aritmética (UPGMA) foi utilizado o software NTSYS 2.1 pc (Rohlf, 2002).

Para analisar a estrutura genética com um método de agrupamento Bayesiano (Hubisz et al. 2009), foi utilizado o programa STRUCTURE v.2.3.3. O modelo de "adição" foi utilizado com frequências de alelos correlacionados, e as simulações foram realizadas com

burn-in de 100.000 gerações e valores de K variando de 1 a 6 (K = números de grupos formados de acordo com o software Structure). O número de agregados (K) foi determinado utilizando STRUCTURE HARVESTER (Earl and von Holdt, 2012).

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Análise da diversidade química nos óleos essenciais

De acordo com a análise da composição química foram identificados 30 compostos nos óleos essenciais das plantas de *Eugenia* spp. (Tabela 2). Os principais compostos detectados definiram a formação de 4 grupos químicos, de acordo com a análise de agrupamento (Figura 2).

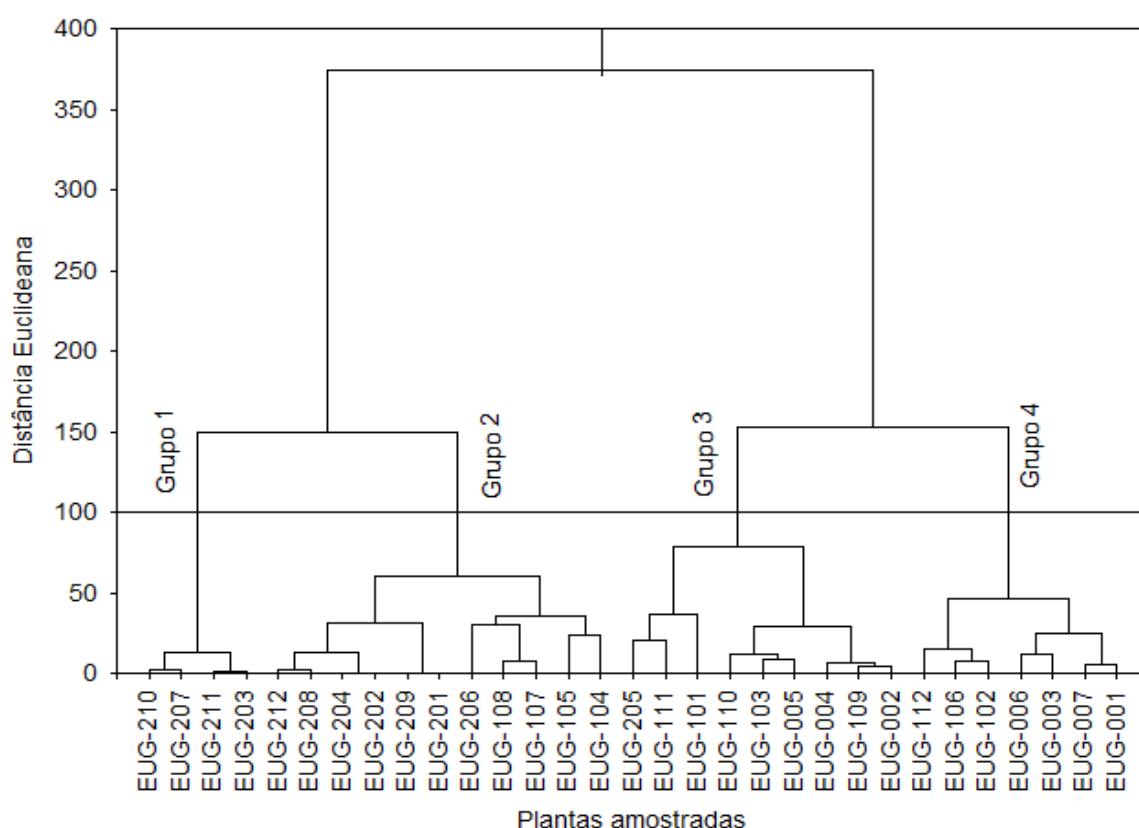


Figura 2. Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre 31 plantas de *Eugenia* spp. para a composição química do óleo essencial.

Considerando as similaridades dos compostos químicos dos óleos essenciais das plantas de *Eugenia* spp., os grupos foram caracterizados como; Grupo 1: constituído pelas plantas EUG-210, EUG-207, EUG-211, EUG-203 apresentando α -copaeno (19,06-22,91%), (E)-cariofileno (17,58-21,37%), germacreno D (11,55-14,28%) e δ -cadineno (9,01-11,17%) como compostos majoritários; Grupo 2: constituído pelas plantas EUG-212, EUG-208, EUG-204, EUG-202, EUG-209, EUG-201, EUG-206, EUG-108, EUG-107, EUG-105, EUG-104, com δ -elemeno (2,60-21,18%), germacreno D (6,58-22,13%) e/ou biciclogermacreno (0-26,36%) como compostos majoritários; Grupo 3: constituído pelas plantas EUG-205, EUG-111, EUG-101, EUG-110, EUG-103, EUG-005, EUG-004, EUG-109, EUG-002, apresentando espatulenol (18,09-49,61%) e/ou (E)- β -elemenona (0-30,15%) e muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol (5,58-13,35) como compostos majoritários; Grupo 4: constituído pelas plantas EUG-112, EUG-106, EUG-102, EUG-006, EUG-003, EUG-007, EUG-001, apresentando espatulenol (2,68-25,62) e (E)- β -elemenona (35,21-49,05%) como compostos majoritários (Figuras 2 e 3). O composto espatulenol estava presente em todas as plantas de

Eugenia estudadas, variando de 2,62% (EUG-210) a 49,61% (EUG-101) (Tabela 2). As plantas EUG-102 e EUG-106 apresentaram maior teor de óleo essencial, 1,80% e 1,87% respectivamente (Tabela 2).

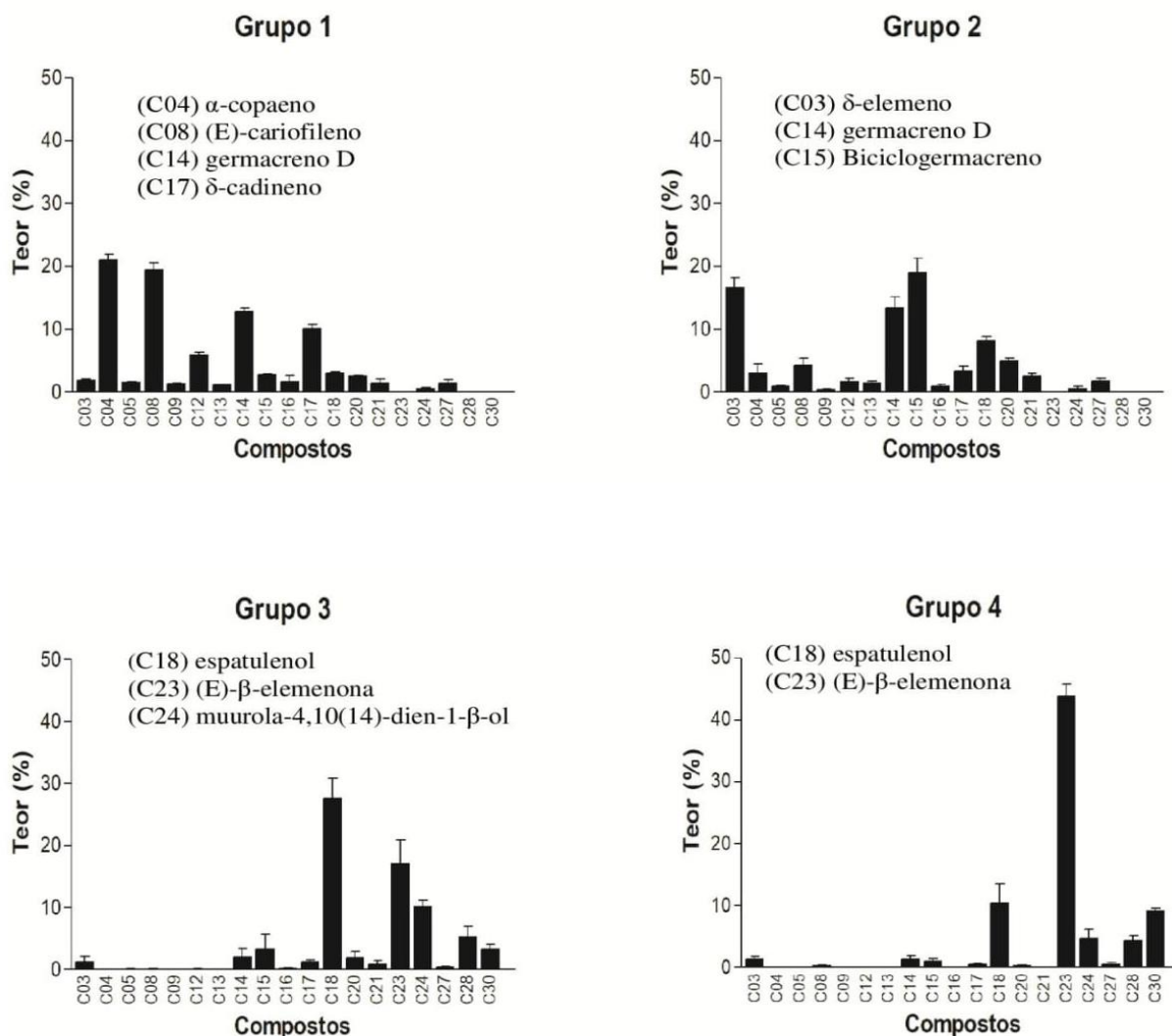


Figura 3. Médias dos principais constituintes químicos do óleo essencial dos quatro grupos químicos de *Eugenia* spp. (C03) δ -elemeno, (C04) α -copaeno, (C05) β -bourboneno, (C08) (E)-cariofileno, (C09) cedreno, (C12) α -humuleno, (C13) α -neo-clovene, (C14) germacreno D, (C15) biciclogermacreno, (C16) β -bisaboleno, (C17) δ -cadineno, (C18) espatulenol, (C20) globulol (C21) viridiflorol, (C23) (E)- β -elemenona, (C24) muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol, (C27) α -cadinal, (C28) (Z,E)-germacrona e (C30) (E,E)-germacrona.

Na análise de componente principal (Figura 4), o componente principal primário representou 38,02 % da variação total e foi relacionado positivamente com os compostos α -copaeno ($r=0,84$), β -bourboneno ($r=0,87$), (E)-cariofileno ($r=0,91$), β -cedreno ($r=0,86$), α -humuleno ($r=0,93$), α -neo-clovene ($r=0,74$), β -bisaboleno ($r=0,73$), δ -cadineno ($r=0,77$), e negativamente com β -elemeno ($r=-0,69$). O componente principal secundário representou 15,08% da variação total e foi relacionado positivamente com os compostos δ -elemeno ($r=0,77$), germacreno D ($r=0,74$), globulol ($r=0,87$), viridifloral ($r=0,80$), α -cadinal ($r=0,74$), e negativamente com (E)- β -elemenona ($r=-0,67$).

Analisando os constituintes químicos encontrados no óleo essencial das espécies do gênero *Eugenia*, observou-se alta correlação positiva entre alguns deles (Tabelas 3). A maior correlação foi observada entre os compostos (E,E)-germacrona e (E)- β -elemenona ($r=0,99$). O composto α -copaeno apresentou correlação com os compostos β -cedreno ($r=0,75$), δ -cadineno

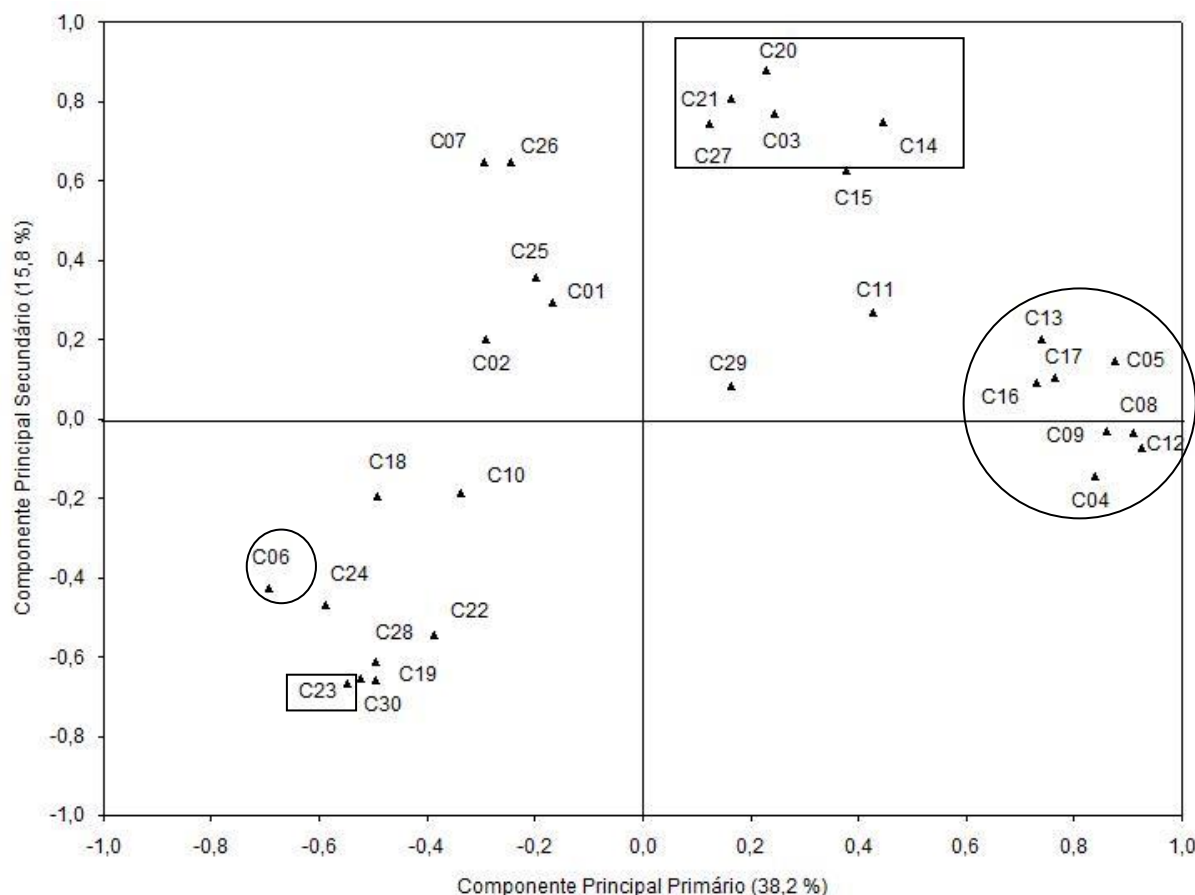


Figura 4. Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial de plantas de *Eugenia* spp. em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP). Compostos: ((C01) limoneno, (C02) metil geranato, (C03) δ -elemeno, (C04) α -copaeno, (C05) β -bourboneno, (C06) β -elemeno, (C07) sibireno, (C08) (E)-cariofileno, (C09) β -cedreno, (C10) γ -elemeno, (C11) (Z)- β -farneseno, (C12) α -humuleno, (C13) α -neo-clovene, (C14) germacreno D, (C15) biciclogermacreno, (C16) β -bisaboleno, (C17) δ -cadineno, (C18) espatulenol, (C19) óxido de cariofileno, (C20) globulol (C21) viridiflorol, (C22) (Z)- β -elemenona, (C23) (E)- β -elemenona, (C24) muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol, (C25) (Z)-cadin-4-en-7-ol, (C26) epi- α -muurolol, (C27) α -cadinal, (C28) (Z,E)-germacrona, (C29) germacro-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol, (C30) (E,E)-germacrona.

Tabela 2. Teor de óleo essencial e constituintes químicos do óleo essencial de plantas de *Eugenia* spp. do Estado de Sergipe, Brasil.

COD.	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	OE (%)	
EUG-001	0,000	0,000	0,297	0,000	0,000	4,777	0,000	0,000	0,000	2,530	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,572	6,386	0,930	0,000	0,000	3,657	49,049	8,783	0,000	0,000	0,000	3,957	0,000	10,89	0,62 d	
EUG-002	0,000	1,773	0,306	0,000	0,000	3,582	0,000	0,000	0,000	0,557	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,014	20,650	3,513	0,000	0,000	4,719	19,092	13,353	0,000	0,000	0,000	9,507	0,000	4,155	0,47 e	
EUG-003	0,000	0,000	0,315	0,000	0,000	2,860	0,000	0,000	0,000	1,854	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,451	17,612	2,607	0,000	0,000	0,000	47,444	7,131	0,000	0,000	0,000	2,253	0,000	8,715	1,00 b	
EUG-004	0,000	1,058	0,395	0,000	0,000	4,811	0,000	0,000	0,000	0,621	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,982	18,087	3,145	0,000	0,000	4,232	19,654	13,097	0,000	0,000	0,000	13,620	0,000	4,176	0,60 d	
EUG-005	1,541	0,646	0,403	0,000	0,000	4,202	0,000	0,000	0,000	1,218	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,073	26,938	3,621	0,000	0,000	2,972	24,473	9,816	0,000	0,000	0,000	3,532	0,000	4,917	0,62 d	
EUG-006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,657	0,000	0,000	0,000	1,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	25,617	2,047	0,000	0,000	2,833	39,987	7,487	0,000	0,000	0,000	1,257	0,000	9,427	1,00 b	
EUG-007	0,000	0,000	0,614	0,000	0,000	6,055	0,000	0,000	0,000	4,401	0,000	0,000	0,000	0,746	0,000	0,000	0,616	7,696	1,601	0,000	0,000	0,000	46,277	7,328	0,000	0,000	0,000	5,631	0,000	9,511	1,00 b	
EUG-101	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	5,553	0,000	0,000	0,000	3,110	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,957	49,610	0,000	5,213	0,000	0,000	8,867	13,680	3,077	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,65 d	
EUG-102	0,000	0,000	2,872	0,000	0,000	3,909	0,000	0,635	0,000	14,062	0,000	0,000	0,000	2,349	3,341	0,000	0,000	3,263	0,000	1,249	0,000	0,000	43,279	1,538	1,074	0,000	1,327	6,889	0,000	9,390	1,80 a	
EUG-103	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	2,841	0,000	0,000	0,000	1,091	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	33,126	3,540	0,000	0,000	3,432	28,949	7,153	0,000	0,000	0,000	4,631	0,000	5,712	0,38 e	
EUG-104	1,450	5,617	13,567	0,000	0,000	2,633	2,697	0,000	0,000	1,650	0,000	0,000	0,000	12,787	0,000	0,000	4,223	5,227	0,000	6,587	5,117	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	4,183	0,000	0,000	0,000	0,60 d	
EUG-105	20,497	0,000	15,773	0,000	0,000	1,373	2,240	0,000	0,000	1,180	0,000	0,000	0,000	12,583	8,443	0,000	0,960	9,433	0,000	4,170	2,137	0,000	0,000	4,720	0,000	0,807	2,127	0,000	0,000	0,000	0,42 e	
EUG-106	0,000	0,000	2,524	0,000	0,000	6,746	0,000	0,799	0,000	17,885	0,000	0,000	0,000	3,737	1,774	0,000	0,506	2,683	0,767	0,000	0,000	0,000	45,775	0,000	1,790	0,000	0,000	2,664	0,000	8,876	1,87 a	
EUG-107	0,000	0,000	17,378	0,000	0,000	1,535	0,000	4,060	0,000	0,941	0,000	0,000	0,000	22,133	15,340	0,000	3,394	7,471	0,000	5,652	3,283	0,000	0,000	0,000	3,497	4,063	4,352	0,000	0,000	0,000	0,73 c	
EUG-108	0,000	0,000	16,943	0,000	0,000	1,850	4,203	0,000	0,000	1,127	0,000	0,000	0,000	21,143	19,367	0,000	3,677	5,217	0,000	5,810	3,920	0,000	0,000	0,000	2,937	2,297	2,103	0,000	0,000	0,000	0,53 d	
EUG-109	0,000	1,690	0,000	0,000	0,000	5,457	0,000	0,000	0,000	1,770	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,957	22,423	3,700	0,000	0,000	3,507	21,873	12,113	0,000	0,000	0,000	8,193	0,000	3,567	0,73 c	
EUG-110	0,000	0,000	0,863	0,000	0,000	3,460	0,000	0,000	0,000	5,887	0,000	0,000	0,000	1,490	1,290	0,000	1,443	24,377	3,383	0,000	0,000	0,000	30,150	5,577	0,000	0,000	0,723	7,840	0,000	6,750	0,73 c	
EUG-111	1,010	1,503	8,473	0,000	0,000	1,393	3,770	0,000	0,000	0,773	0,000	0,000	0,000	12,800	8,263	0,000	3,980	28,307	0,000	5,457	1,523	0,000	0,000	7,277	0,000	1,720	1,430	0,000	0,000	0,000	0,77 c	
EUG-112	0,000	0,000	2,491	0,000	0,000	5,343	0,000	0,000	0,000	19,145	0,000	0,000	0,000	2,468	1,826	0,000	1,129	9,315	1,517	0,000	0,000	0,000	35,208	0,000	2,523	0,000	1,806	7,307	0,000	7,014	1,00 b	
EUG-201	0,000	0,000	17,667	9,563	0,550	1,243	0,000	10,220	0,520	0,000	0,940	3,957	2,590	6,583	21,967	1,903	4,797	8,310	0,000	3,577	1,187	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,023	0,000	0,000	0,000	0,53 d	
EUG-202	0,000	0,000	21,117	0,000	1,593	1,537	0,000	5,540	0,000	0,000	2,947	0,000	2,880	8,443	26,123	1,870	1,343	10,347	0,000	6,127	2,127	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,903	0,000	0,000	0,000	0,40 e	
EUG-203	0,000	0,000	1,610	19,057	1,590	0,000	0,000	17,910	1,173	0,000	0,413	6,913	1,163	11,977	2,883	3,430	9,040	3,020	0,000	2,820	0,507	0,000	0,000	0,843	0,000	0,000	1,873	0,000	1,053	0,000	0,60 d	
EUG-204	0,000	0,000	21,180	0,000	1,633	1,577	0,000	5,610	0,000	0,000	2,980	0,000	2,873	8,593	26,360	1,907	1,350	10,223	0,000	6,150	2,047	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,657	0,000	0,000	0,000	0,60 d	
EUG-205	0,000	0,000	0,390	0,287	0,447	4,830	0,000	0,527	0,000	5,430	0,000	0,463	0,000	3,520	20,743	1,240	0,500	25,487	0,000	6,587	5,870	0,000	0,000	8,547	3,150	0,000	0,937	0,000	3,060	0,000	0,80 c	
EUG-206	0,000	0,000	2,600	13,287	1,053	0,643	0,000	0,530	0,000	8,913	0,000	4,247	0,000	20,700	20,593	0,000	9,770	6,110	0,000	0,743	2,440	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,76 c	
EUG-207	0,000	0,000	2,227	22,910	1,357	1,487	0,000	21,370	1,437	0,000	0,000	5,107	1,327	13,500	2,637	0,000	11,173	2,753	0,000	2,220	2,417	0,000	0,000	0,000	1,523	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,31 e	
EUG-208	0,000	0,000	20,020	0,000	2,083	1,567	0,000	5,433	1,257	0,000	1,293	2,803	2,307	13,873	24,117	1,203	1,747	9,213	0,000	5,220	2,477	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,700	0,000	0,000	0,000	0,42 e	
EUG-209	0,000	0,000	17,263	9,563	0,593	1,290	0,000	10,233	0,523	0,000	0,950	3,980	2,643	6,713	22,270	1,893	4,753	8,343	0,000	3,400	1,183	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,030	0,000	0,000	0,000	0,53 d	
EUG-210	0,000	0,000	2,200	22,160	1,723	1,497	0,000	21,253	1,453	0,000	0,000	5,057	1,323	14,280	2,653	0,000	11,123	2,617	0,000	2,093	2,583	0,000	0,000	0,000	1,543	0,000	2,153	0,000	0,000	0,000	0,40 e	
EUG-211	0,000	0,000	1,537	20,037	1,590	0,000	0,000	17,577	1,177	0,000	0,413	6,290	1,157	11,550	2,883	3,290	9,010	3,603	0,000	2,737	0,477	0,000	0,000	0,857	0,000	0,000	1,787	0,000	1,053	0,000	0,60 d	
EUG-212	0,000	0,000	19,283	0,000	2,140	1,567	0,000	5,327	1,257	0,000	1,253	2,810	2,280	13,717	23,403	1,217	1,703	10,110	0,000	6,323	2,327	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,690	0,000	0,000	0,000	0,53 d	
IRRo	1031	1328	1343	1383	1392	1399	1427	1428	1439	1441	1450	1464	1472	1491	1510	1516	1532	1594	1597	1599	1606	1611	1619	1645	1653	1655	1669	1684	1700	1712		
IRRI	1024	1322	1335	1374	1388	1389	1400	1417	1419	1434	1440	1450	1452	1452	1480	1500	1505	1522	1577	1582	1590	1592	1589	1602	1630	1635	1640	1652	-	1685	1693	

Compostos: (C01) limoneno, (C02) metil geranato, (C03) δ -elemeno, (C04) α -copaeno, (C05) β -bourboneno, (C06) β -elemeno, (C07) sibireno, (C08) (E)-cariofileno, (C09) β -cedreno, (C10) γ -elemeno, (C11) (Z)- β -farneseno, (C12) α -humuleno, (C13) α -neo-clovene, (C14) germacreno D, (C15) biciclogermacreno, (C16) β -bisaboleno, (C17) δ -cadineno, (C18) espatulenol, (C19) óxido de cariofileno, (C20) globulol (C21) viridiflorol, (C22) (Z)- β -elemenona, (C23) (E)- β -elemenona, (C24) muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol, (C25) (Z)-cadin-4-en-7-ol, (C26) epi- α -muurolol, (C27) α -cadinal, (C28) (Z,E)-germacrona, (C29) germacro-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol, (C30) (E,E)-germacrona. IRRo: índice de retenção relativo observado; IRRI: índice de retenção relativo da literatura. OE: teor de óleo essencial; Teste de Skott-Knott a 0,05%.

Tabela 3. Coeficientes de correlação para os constituintes químicos do óleo essencial de *Eugenia* spp. no Estado de Sergipe, Brasil.

	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	
C01		0,01	0,21	-0,11	-0,15	-0,15	0,35	-0,13	-0,12	-0,08	-0,10	-0,13	-0,14	0,14	-0,02	-0,13	-0,11	-0,05	-0,12	0,12	0,11	-0,09	-0,16	0,03	-0,13	0,12	0,20	-0,14	-0,06	-0,15	
C02			0,03	-0,19	-0,26	0,09	0,42	-0,23	-0,20	-0,13	-0,17	-0,22	-0,23	0,01	-0,27	-0,21	-0,01	0,04	0,13	0,15	0,27	0,21	-0,12	0,15	-0,22	-0,03	0,33	0,14	-0,10	-0,12	
C03				-0,14	0,40	-0,51	0,32	0,10	0,14	-0,31	0,69	0,04	0,67	0,58	0,81	0,33	0,00	-0,34	-0,55	0,75	0,51	-0,44	-0,59	-0,59	-0,04	0,36	0,53	-0,51	-0,21	-0,57	
C04					0,55	-0,55	-0,19	0,90	0,75	-0,21	-0,04	0,92	0,33	0,40	-0,01	0,44	0,94	-0,43	-0,36	-0,04	0,09	-0,27	-0,41	-0,41	-0,04	-0,17	0,07	-0,35	0,17	-0,40	
C05						-0,61	-0,26	0,70	0,80	-0,33	0,63	0,70	0,79	0,48	0,54	0,65	0,53	-0,40	-0,49	0,41	0,29	-0,37	-0,57	-0,56	-0,19	-0,24	0,15	-0,49	0,15	-0,55	
C06							-0,21	-0,58	-0,53	0,55	-0,37	-0,64	-0,54	-0,71	-0,49	-0,54	-0,64	0,36	0,49	-0,45	-0,36	0,36	0,70	0,57	0,26	-0,23	-0,43	0,61	0,00	0,65	
C07								-0,23	-0,21	-0,14	-0,17	-0,23	-0,24	0,43	0,07	-0,22	0,05	-0,03	-0,26	0,43	0,42	-0,20	-0,30	-0,10	0,09	0,48	0,42	-0,26	-0,11	-0,29	
C08		-							0,87	-0,34	0,22	0,88	0,58	0,40	0,12	0,58	0,81	-0,47	-0,43	0,16	0,13	-0,33	-0,48	-0,50	-0,01	-0,11	0,20	-0,42	0,15	-0,46	
C09										-0,34	0,16	0,85	0,56	0,41	0,16	0,49	0,68	-0,41	-0,39	0,19	0,15	-0,29	-0,45	-0,46	-0,09	-0,18	0,20	-0,38	0,11	-0,43	
C10											-0,28	-0,26	-0,39	-0,22	-0,21	-0,31	-0,23	-0,14	0,02	-0,36	-0,22	-0,19	0,51	-0,15	0,35	-0,14	-0,10	0,30	0,01	0,49	
C11												0,10	0,85	0,16	0,70	0,59	-0,05	-0,18	-0,32	0,49	0,16	-0,25	-0,37	-0,40	-0,27	-0,15	0,03	-0,32	-0,07	-0,36	
C12													0,49	0,45	0,19	0,63	0,86	-0,45	-0,43	0,08	0,11	-0,33	-0,50	-0,49	-0,14	-0,20	0,13	-0,42	0,21	-0,48	
C13														0,27	0,69	0,69	0,27	-0,33	-0,45	0,46	0,18	-0,34	-0,52	-0,54	-0,27	-0,21	0,10	-0,44	-0,05	-0,50	
C14															0,54	0,20	0,63	-0,52	-0,69	0,60	0,67	-0,55	-0,73	-0,69	0,22	0,57	0,66	-0,64	-0,02	-0,70	
C15																0,45	0,09	-0,25	-0,57	0,68	0,56	-0,44	-0,62	-0,53	0,06	0,21	0,24	-0,53	0,15	-0,59	
C16																	0,33	-0,29	-0,41	0,37	0,09	-0,31	-0,47	-0,39	-0,23	-0,19	0,17	-0,40	0,43	-0,45	
C17																		-0,46	-0,45	0,12	0,28	-0,36	-0,56	-0,49	0,02	0,04	0,26	-0,44	0,08	-0,55	
C18																			0,48	-0,07	-0,26	0,37	0,14	0,76	0,07	-0,08	-0,41	0,20	0,07	0,09	
C19																					-0,73	-0,59	0,75	0,59	0,67	-0,31	-0,23	-0,52	0,77	-0,20	0,57
C20																						0,77	-0,55	-0,77	-0,39	0,28	0,37	0,60	-0,68	0,26	-0,77
C21																							-0,44	-0,68	-0,43	0,36	0,35	0,60	-0,58	0,41	-0,65
C22																								0,39	0,71	-0,31	-0,18	-0,47	0,65	-0,15	0,40
C23																									0,39	-0,10	-0,27	-0,50	0,60	-0,23	0,99
C24																										-0,10	-0,16	-0,55	0,57	0,07	0,36
C25																										0,49	0,29	-0,17	0,29	-0,14	
C26																											0,57	-0,23	-0,09	-0,26	
C27																												-0,39	0,07	-0,47	
C28																													-0,19	0,60	
C29																															-0,22

Compostos: (C01) limoneno, (C02) metil geranato, (C03) δ -elemeno, (C04) α -copaeno, (C05) β -bourboneno, (C06) β -elemeno, (C07) sibireno, (C08) (E)-cariofileno, (C09) β -cedreno, (C10) γ -elemeno, (C11) (Z)- β -farneseno, (C12) α -humuleno, (C13) α -neo-clovene, (C14) germacreno D, (C15) biciclogermacreno, (C16) β -bisaboleno, (C17) δ -cadineno, (C18) espatulenol, (C19) óxido de cariofileno, (C20) globulol (C21) viridiflorol, (C22) (Z)- β -elemenona, (C23) (E)- β -elemenona, (C24) muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol, (C25) (Z)-cadin-4-en-7-ol, (C26) epi- α -muurolol, (C27) α -cadinal, (C28) (Z,E)-germacrona, (C29) germacro-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol, (C30) (E,E)-germacrona.

4.3.2. Análise da diversidade genética

O valor de estresse encontrado na população de *Eugenia* spp. com menor número de indivíduos (Serra da Guia) foi de 0 com a correlação $r=1$, o que confirma a estabilidade entre o número de *primes* utilizados neste trabalho e a quantidade de locos obtidos. Um alto nível de polimorfismo foi observado nos 10 *primes* ISSR testados nas plantas de *Eugenia* spp. O número de fragmentos polimórficos variou de 7 (UBC809) a 18 (GOOFY) e a percentagem de polimorfismo de 88,89 a 100,00 % (Tabela 4).

Tabela 4. Sequências, temperaturas de anelamento (T), número de fragmentos, número de fragmentos polimórficos e percentagem de polimorfismo (P%) gerado por cada primers ISSR usado para análise de diversidade genética de *Eugenia* spp.

Primer	Sequência (5'-3')	T (°C)	Número de fragmentos	Número de fragmentos polimórficos	P%
UBC807	(AG) 8-T	43	9	8	88,89
UBC808	(AG) 8-C	47	12	12	100,00
UBC809	(AG) 8-G	48	7	7	100,00
UBC810	(GA) 8-T	45	14	14	100,00
UBC811	(GA) 8-C	45	15	15	100,00
UBC825	(AC) 8-T	47	12	12	100,00
UBC835	(AG) 8-YC	48	13	12	92,31
GOOFY	(GT) 7-YG	48	18	18	100,00
MAO	(CTC) 4-RC	45	10	10	100,00
OMAR	(GAG) 4-RC	47	10	10	100,00

A diversidade genética de Nei (H_E) variou de 0,25 a 0,29, com valor médio de 0,27 e o índice de Shannon (I) obtido variou de 0,37 a 0,44, com média de 0,40 entre as diferentes populações de *Eugenia* estudadas.

A análise de agrupamento dos indivíduos pelo índice de similaridade de Jaccard, usando o método do grupo de pares não ponderado com média aritmética (UPGMA), mostrou a formação de dois grupos, com uma evidente separação, indicando que as plantas pertencem a duas espécies de *Eugenia*. O grupo 1 formado por 19 indivíduos e o grupo 2 formado por 12 indivíduos (Figura 5). Com esses dados em mãos, o professor Dr. Marcos Eduardo Guerra Sobral, taxonomista em Myrtaceae, chegou aos seguintes nomes científicos: *Eugenia subreticulata* Glaz. para o grupo 1 e *Eugenia selloi* (O.Berg) B.D.Jacks. para o grupo 2.

O coeficiente de similaridade genética das 31 plantas de *Eugenia* spp. variou de 0,29 a 0,89. Sendo a maior similaridade (0,89) observada entre as plantas EUG-107 e EUG-106 representando os indivíduos mais semelhantes geneticamente entre todos os pares avaliados, enquanto EUG-210 e EUG-107 foram os pares mais divergentes, apresentando um coeficiente de similaridade de 0,29.

Para determinar os padrões de diferenciação genética populacional, a análise Bayesiana foi realizada usando o software Structure, agrupou as espécies de *Eugenia* em dois grupos principais ($K = 2$) (Figura 6) apresentando plantas com mistura do material genético dos dois grupos (EUG-001, EUG-003, EUG-004, EUG-007, EUG-101, EUG-103, EUG-104, EUG-105, EUG-110, EUG-111, EUG-112, EUG-201, EUG-204, EUG-205, EUG-206, EUG-207).

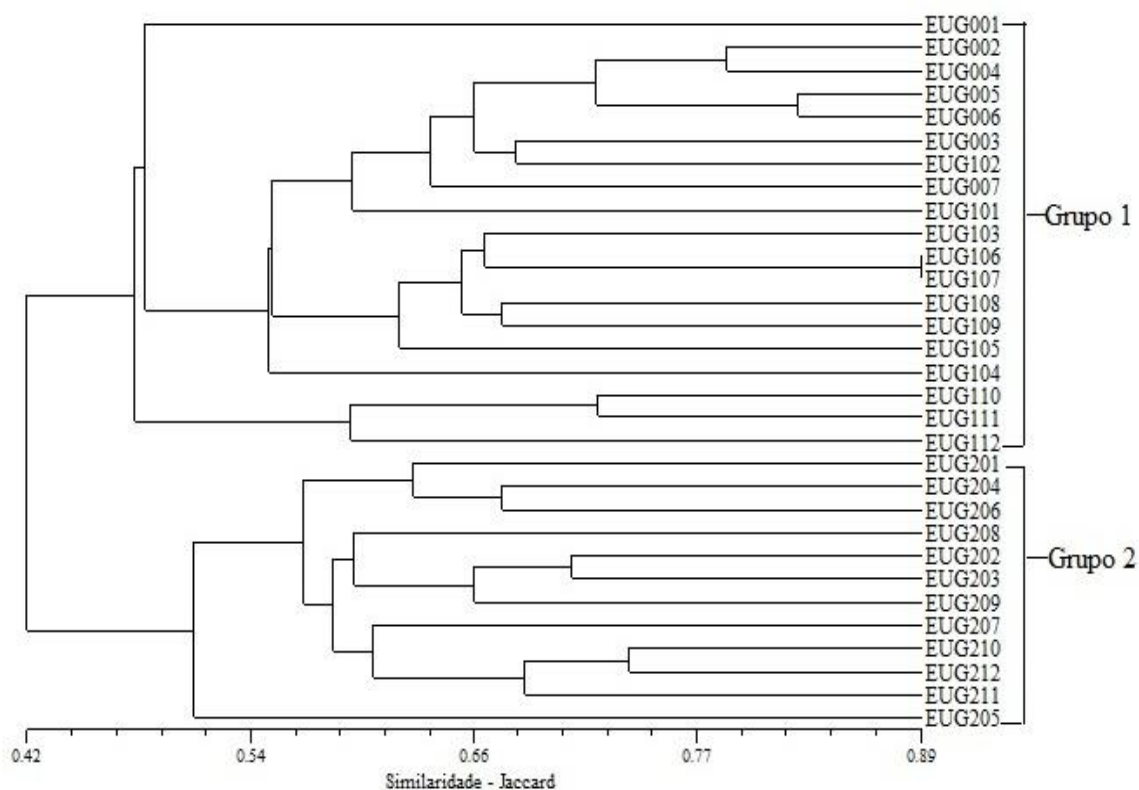


Figura 5. Dendrograma gerado pelo método de grupo de pares não ponderado com análise de média aritmética (UPGMA) de índice de similaridade de Jaccard para *Eugenia* spp. do Estado de Sergipe, Brasil.

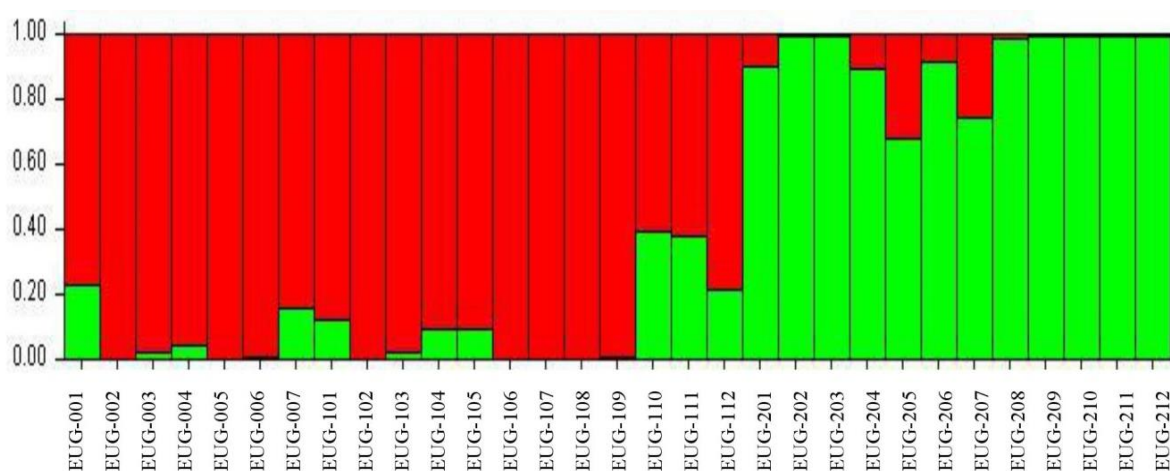


Figura 6. Gráfico mostrando o coeficiente de associação individual de *Eugenia* spp. do Estado de Sergipe em seus respectivos grupos, conforme produzido pelo software Structure (K = 2).

4.3.3. Análise química dos óleos essenciais por espécie

Diante da descoberta das plantas do gênero *Eugenia* se tratarem de duas espécies (*Eugenia subreticulata* Glaz. e *Eugenia selloi* (O.Berg) B.D.Jacks.), realizou-se as análises multivariadas separadamente para cada uma delas.

Os principais compostos detectados na análise de agrupamento da *E. subreticulata* definiram a formação de 3 grupos químicos (Figura 7a). O Grupo 1: constituído pelas plantas EUG-108, EUG-107, EUG-111, EUG-105, EUG-104, apresentando δ -elemeno (8,47-17,37%), germacreno D (12,58-22,13%), e/ou biciclogermacreno (0,00-19,36%) espatulenol (5,21-28,30%) como compostos majoritários e ausência dos compostos (Z)- β -elemenona, (E)- β -elemenona e (E,E)-germacrona; Grupo 2: constituído pelas plantas EUG-101, EUG-110, EUG-103, EUG-005, EUG-004, EUG-109, EUG-002, com espatulenol (18,08-49,61%), (E)- β -elemenona (8,86-30,15%) e muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol (5,57-13,68%) como compostos majoritários e ausência do composto viridiflorol; Grupo 3: constituído pelas plantas EUG-112, EUG-106, EUG-102, EUG-006, EUG-003, EUG-007, EUG-001, apresentando γ -elemeno (1,02-19,14%), espatulenol (2,68-25,61%), (E)- β -elemenona (35,20-49,04%) e (E,E)-germacrona (7,01-10,89%) como compostos majoritários e ausência do composto viridiflorol (Figuras 7a e 8a).

Na análise de componente principal (Figura 9a), o componente principal primário representou 49,85% da variância total e foi relacionado positivamente com os compostos δ -elemeno ($r=0,76$), sibireno ($r=0,78$), germacreno D ($r=0,74$), δ -cadineno ($r=0,81$), globulol ($r=0,84$), viridiflorol ($r=0,81$) e negativamente com β -elemeno ($r=-0,74$), (E)- β -elemenona ($r=-0,93$), (E,E)-germacrona ($r=-0,89$). O componente principal secundário representou 15,45% da variação total e foi relacionado positivamente com os compostos (Z)-cadin-4-en-7-ol ($r=0,71$) e negativamente com óxido de cariofileno ($r=-0,71$), (Z)- β -elemenona ($r=-0,73$), muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol ($r=-0,88$).

De acordo com as similaridades dos compostos químicos dos óleos essenciais das plantas de *E. selloi* definiram a formação de 2 grupos químicos (Figura 7b). Grupo 1: constituído pelas plantas EUG-210, EUG-207, EUG-211, EUG-203, apresentando α -copaeno (19,05-22,91%), (E)-cariofileno (17,57-21,37%), germacreno D (11,55-14,28%), δ -cadineno (9,01-11,17%) como compostos majoritários e ausência do composto β -elemeno; Grupo 2: constituído pelas plantas EUG-206, EUG-205, EUG-2012, EUG-208, EUG-204, EUG-202, EUG-209, EUG-201, apresentando δ -elemeno (0,39-21,18%), germacreno D (3,52-20,70%), biciclogermacreno (20,59-26,36%) e espatulenol (6,11-10,34%) como compostos majoritários (Figuras 7b e 8b).

Na análise de componente principal (Figura 9b), o componente principal primário representou 40,35% da variância total e foi relacionado positivamente com os compostos δ -elemeno ($r=0,73$), (Z)- β -farneseno ($r=0,72$), biciclogermacreno ($r=0,90$), espatulenol ($r=0,75$), globulol ($r=0,88$) e negativamente com α -copaeno ($r=-0,96$), (E)-cariofileno ($r=-0,78$), α -humuleno ($r=-0,92$), δ -cadineno ($r=-0,97$). O componente principal secundário representou 28,46% da variação total e foi relacionado positivamente com o composto α -neo-clovene ($r=0,79$) e negativamente com β -elemeno ($r=-0,72$), viridiflorol ($r=-0,80$), muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol ($r=-0,88$), (Z)-cadin-4-en-7-ol ($r=-0,86$), germacro-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol ($r=-0,80$).

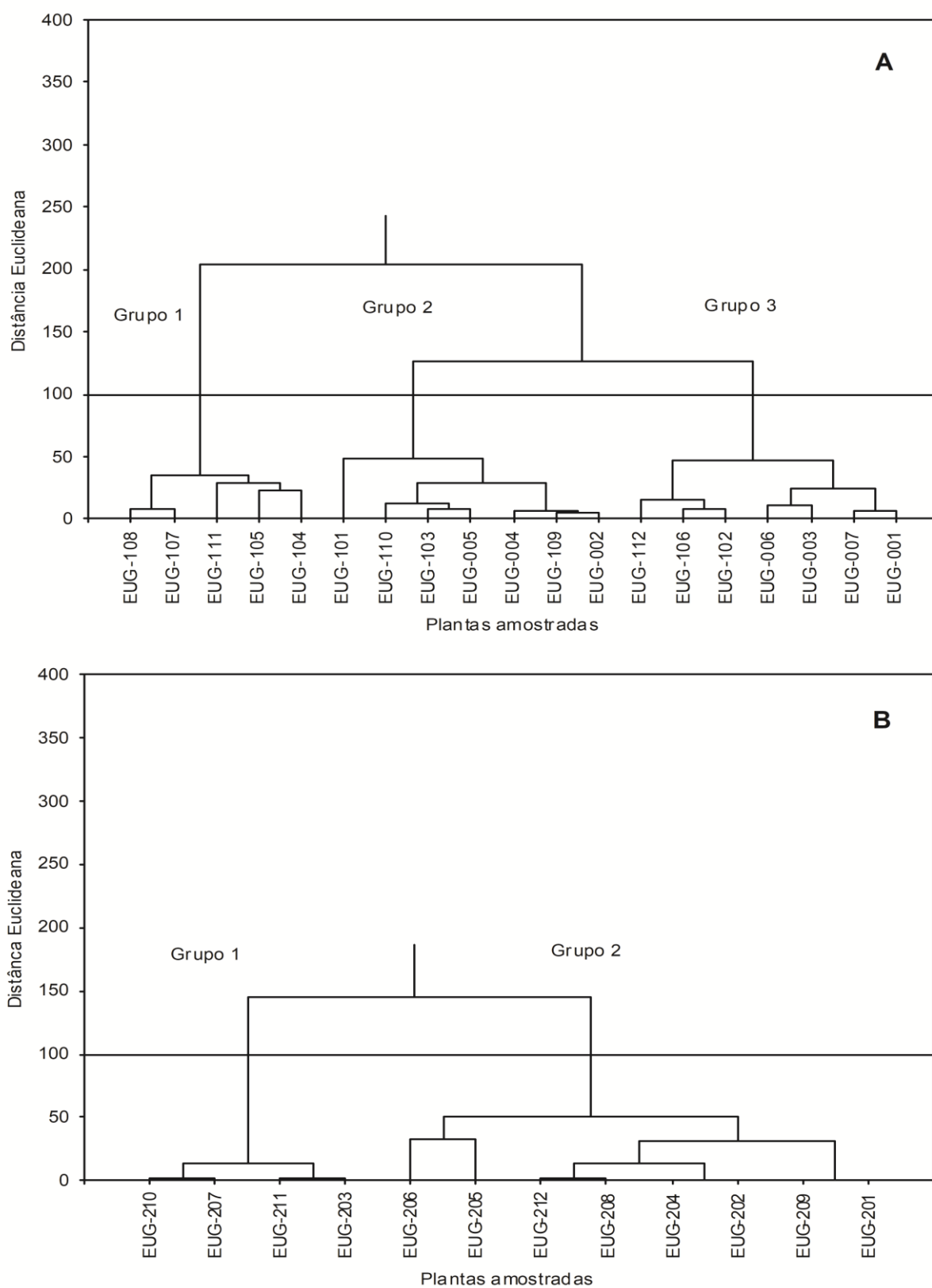


Figura 7. Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre plantas de *Eugenia subreticulata* (A) e *E. selloi* (B) para a composição química do óleo essencial.

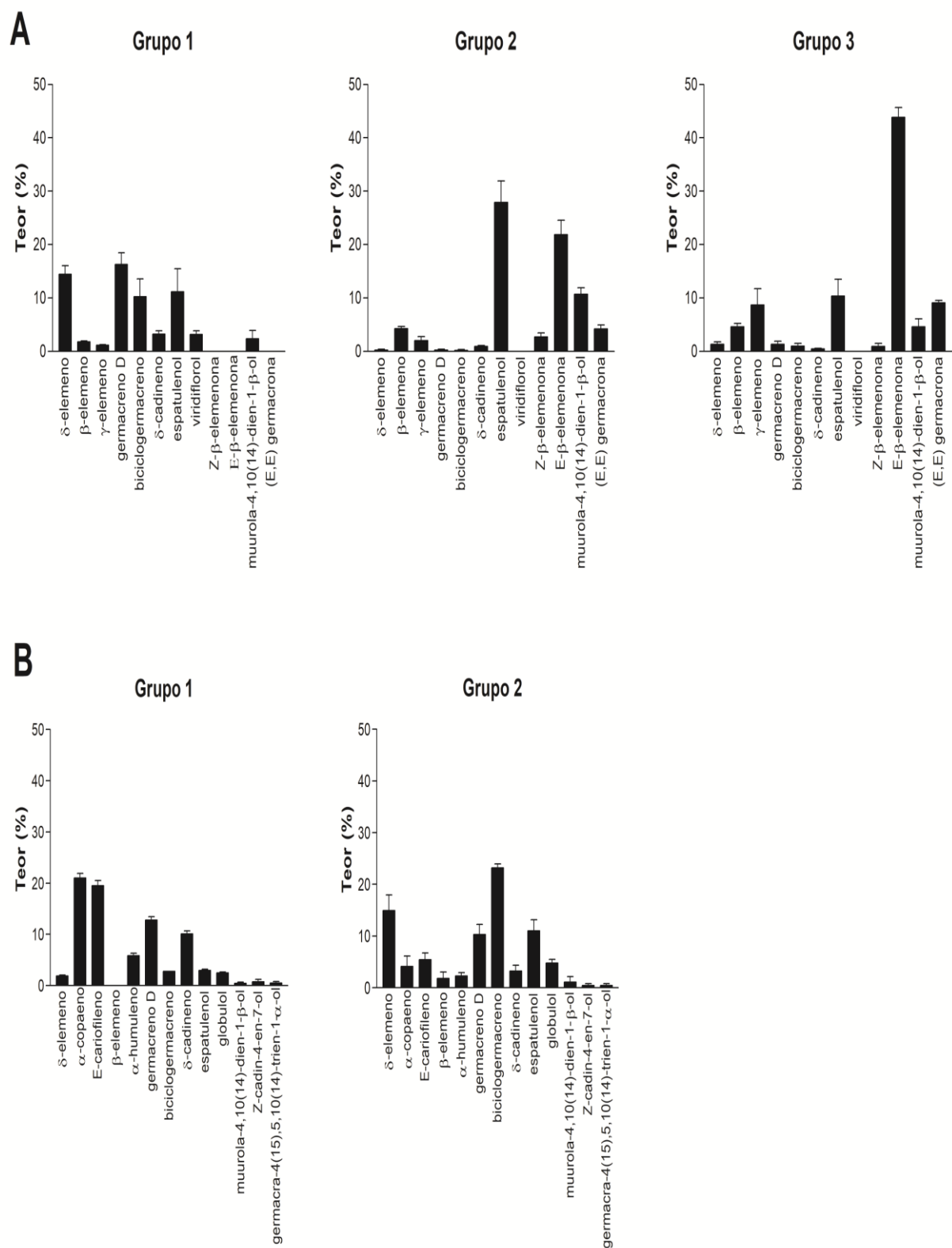


Figura 8. Médias dos principais constituintes químicos do óleo essencial dos três grupos químicos de *Eugenia subreticulata* (A) e dois grupos de *E. selloi* (B).

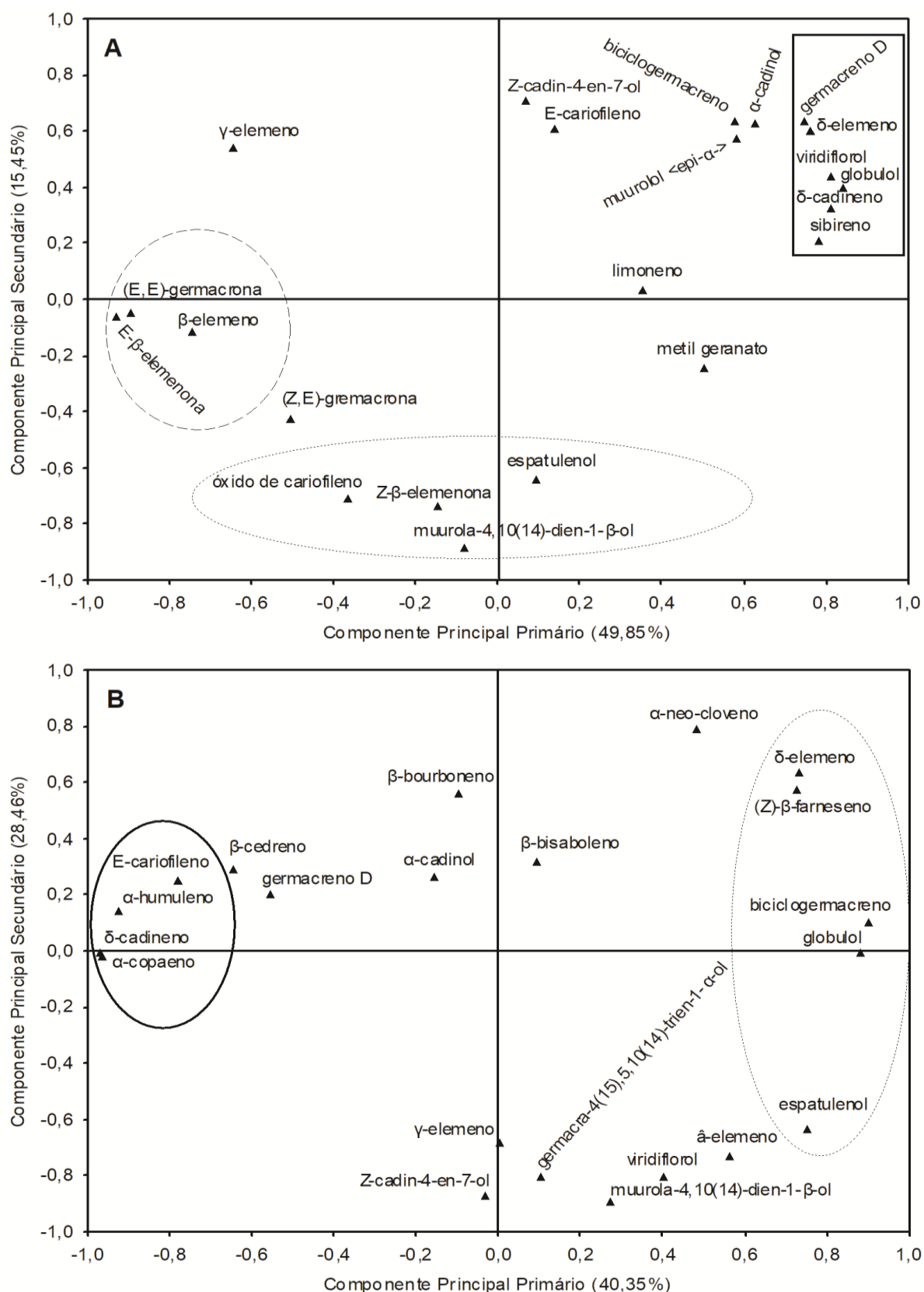


Figura 9. Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial de plantas de *Eugenia subreticulata* (A) e *E. selloi* (B) em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP).

4.4. DISCUSSÃO

4.4.1. Análise da diversidade química

As plantas do gênero *Eugenia* apresentaram variabilidade quanto à composição do óleo essencial. Essa variabilidade na composição química pode estar associada a fatores genéticos e/ou ambientais (Blank et al., 2011; Sampaio et al., 2016; Alves et al., 2016b). Segundo Morais (2009), o fator genético é o que determina a composição química dos óleos essenciais, no entanto, outros fatores como temperatura, luminosidade, pluviosidade, interações entre planta / inseto, planta / microrganismos, planta / planta podem alterar a rota metabólica e consequentemente acarretar na biossíntese de diferentes compostos.

Na literatura tem sido observada variações na composição química de óleos essenciais em plantas de uma mesma espécie coletadas em diferentes localidades (Nizio et al., 2015; Grdiša et al., 2013), ou coletadas em uma mesma área (Alves et al., 2016b), além de variações na composição química em plantas dos mesmos gêneros (Estanislau et al., 2001; Bandeira et al. 2011).

Os componentes majoritários comumente encontrados no óleo essencial da maioria das espécies do gênero *Eugenia* são β -pineno, α -pineno, β -cariofileno, espatulenol e o limoneno (Queiroz et al., 2015). Apesar de não existir ainda trabalhos na literatura sobre a composição química do óleo essencial das espécies de *Eugenia* deste estudo, percebe-se que os compostos majoritários encontrados no presente trabalho se mostraram em sua maioria diferentes.

A depender das características e dos componentes químicos encontrados nos óleos essenciais, os mesmos podem apresentar atividade biológica e serem utilizados para diversos fins. O composto espatulenol encontrado em todas as plantas *Eugenia* spp. tem sido explorado em estudos devido ao potencial bioativo que apresenta. Segundo Paksoy et al. (2015) o espatulenol é um composto base que pode ser utilizado em diversas áreas, dentre elas alimentícia, cosmética, medicamentos e também apresenta potencial para ser um agente anticancerígeno.

Na composição química do óleo essencial de *Eugenia* spp. foi observado a predominância de sesquiterpenos (Tabela 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2017) estudando o óleo essencial de *Eugenia egensis* DC., *E. flavescens* DC., *E. patrisii* Rich. e *E. polystachya* Vahl. Segundo Queiroz et al. (2015) as espécies do gênero *Eugenia*, em geral apresentam na sua composição química sesquiterpenos em maior quantidade do que monoterpenos.

Na análise de componente principal houve uma baixa explicação fornecida pelos principais componentes em comparação com variação total. Segundo Sampaio et al. (2016,) isso ocorre devido ao uso de muitas variáveis na análise, no caso do presente trabalho foram 30 compostos químicos.

A alta correlação encontrada entre os compostos (E,E)-germacrona e trans- β -elemenona ($r=0,99$) pode estar relacionada ao fato desses compostos serem oriundos de uma rota metabólica comum ou pela capacidade de um composto sintetizar outro. Estudos realizados por Barrero et al. (2011) têm sintetizado elemenon a partir da germacrona isolada em escala multigrama do óleo essencial de *Geranium macrorrhizum* e *Baccharis latifolia*. Segundo Overton (1978), β -elemenona é um composto que ocorre junto com a germacrona no óleo de *Bulgarian zdravetz*, esse composto químico pode ser formado a partir da germacrona por rearranjo térmico, ou sintetizado por esquema de rota.

As informações fornecidas sobre as correlações entre os compostos químicos podem ser utilizadas na conservação de recursos genéticos e em programas de melhoramento. Pelo fato que, devido à alta correlação observada entre os compostos, ao selecionar uma planta com alto teor do primeiro composto, existe uma grande possibilidade de que aquele apresente alto teor do segundo (Nizio et al., 2015).

Na análise dos óleos essenciais por espécie percebe-se que existem compostos que estão presentes na *E. selloi* e que não estão presentes na *E. subreticulata*, além disso nas plantas de *E. selloi* há uma maior homogeneidade na composição química quando comparada com a *E. subreticulata*, o que possivelmente pode estar relacionado aos diferentes locais de coleta (Brejo Grande) e (Porto da folha, Poço Redondo) respectivamente, que apresentam diferentes climas, e assim, podem ter influenciado na composição química do óleo essencial.

4.4.2. Análise da diversidade genética

O teste de otimização realizado nesse estudo confirma que o número de prime utilizado e a quantidade de fragmentos obtidos foram suficientes para as análises de diversidade genética nas plantas de *Eugenia* spp. O uso desse teste é essencial, pois a utilização de um número elevado de marcadores pode inviabilizar a pesquisa devido ao aumento dos custos, sem aumentar significativamente a precisão dos dados (Gonçalves et al., 2014). Os 10 marcadores moleculares ISSR foram capazes de detectar um alto nível de polimorfismo mostrando-se uma técnica eficiente para examinar a diversidade genética de *Eugenia* spp. Alves et al. (2016a); Santos et al. (2016), testaram alguns desses marcadores em estudo de diversidade genética em espécies da família Myrtaceae e também obtiveram bons resultados.

Na análise de agrupamento pelo índice de similaridade de Jaccard foi possível evidenciar a separação das espécies de *Eugenia* em dois grupos que foram posteriormente identificadas como: *E. selloi* e *E. subreticulata*. Apesar das espécies estudadas pertencerem ao mesmo gênero, percebe-se que há diferenças no perfil genético das duas espécies. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2011) estudando a variabilidade genética entre acessos do gênero *Manihot* por meio de marcadores ISSR.

Por outro lado, Brunchault et al. (2014) estudando espécies do gênero *Eugenia* com ISSR constataram na análise de agrupamento a junção de diferentes espécies no mesmo grupo, *E. spp* (folhas grandes), *E. kanakana*, *E. spp* (folhas pequenas) (Grupo X) e *E. crassipetala*, *E. tinifolia* (Grupo Y), sendo *E. tinifolia* a mais diferente do resto das espécies do grupo.

De acordo com os dados que determinam os padrões de diferenciação genética populacional expressa pela análise Bayesiana (Figura 6), percebe-se que os dois agrupamentos formados também diferenciaram *E. selloi* de *E. subreticulata*, no entanto algumas plantas apresentaram mistura do material genético dos dois grupos, podendo essas espécies compartilharem características genéticas comuns, como acontece com algumas espécies desse gênero (Brunchault et al. 2014). Segundo Santana et al. (2011), as informações genéticas obtidas para espécies pouco conhecidas possibilitam a identificação e seleção de genótipos com características para serem utilizados em programas de conservação e melhoramento genético (Santana et al., 2011).

O dendrograma formado a partir da análise molecular (Figura 5) não está relacionado ao dendrograma estabelecido a partir da composição química dos óleos essenciais (Figura 2). Resultados semelhantes também foram encontrados por Hadian et al. (2011); Celestino et al. (2015); estudando a diversidade genética e o perfil químico em *Zataria multiflora* Boiss. e *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty respectivamente, em que a análise molecular e a química mostram padrões diferentes de agrupamentos. Essa não correlação dos grupos, possivelmente, está associada à influência dos fatores ambientais que podem redirecionar a rota metabólica nas plantas, promovendo a biossíntese de diferentes compostos químicos nos óleos essenciais e assim diferenciando-os do padrão genético.

Estudos fitoquímicos, genéticos, entre outros, realizados de forma simultânea em espécies de diferentes localidades geográficas são importantes, pois podem fornecer informações para a identificação quimiotaxonômica de plantas aromáticas e medicinais, além de dar subsídios para conservação e gestão eficientes desses recursos (Rustaiee et al., 2013).

Devido ao potencial econômico das plantas aromáticas e medicinais, são crescentes os estudos, na literatura, que visam caracterização, seja ela genética e/ou química, a fim de nortear a conservação e o uso dessas espécies (Hadian et al., 2011; Rustaiee et al., 2013; Celestino et al. 2015; Wang et al., 2016; Silva et al., 2017). Segundo Estopa et al. (2006), os estudos genéticos de populações naturais permitem fazer a avaliação e quantificação da variabilidade genética e sua distribuição no tempo e no espaço. Esse conhecimento permite entender melhor a atuação da seleção em função da adaptabilidade, desta forma quanto maior a variabilidade genética na população, maior é a chance de sobrevivência da espécie.

Para os índices que avaliam a diversidade genética nos estudos de populações em condições naturais, espera-se que a *He* apresente valores sempre diferente de zero (Costa et al., 2011), pelo fato de haver possibilidade de novos alelos serem incorporados por mutação ou cruzamentos (Barreira et al., 2006). O índice de Shannon pode variar de 0 a 1, sendo a menor diversidade representada quando os valores estão mais próximos de zero (Estopa et al., 2006). Para as populações de *Eugenia* spp. os valores estão abaixo de 0,5, indicando, assim, uma baixa diversidade dessas espécies. Esses valores podem ser atribuídos à fragmentação e às pressões antrópicas nas áreas estudadas, com isso deve-se adotar estratégias de conservação vegetal.

Além disso, para um melhor uso do índice de Shannon necessita-se de estudos comparativos na maioria das vezes (Melo, 2008), no entanto, a comparação desse índice com o encontrado em outras pesquisas é limitada, pois podem ter sido utilizados diferentes métodos para calculá-lo (Gillies et al., 1997), principalmente para a *E. subreticulata* e *E. selloi* em que as informações são escassas na literatura, sendo esse estudo pioneiro. Desta forma, os resultados encontrados neste trabalho podem contribuir para comparação com outras pesquisas que utilizarem métodos similares ou as mesmas espécies.

4.5. CONCLUSÕES

Os resultados da análise da diversidade química dos óleos essenciais de todos os indivíduos permitiram concluir a presença de quatro grupos químicos.

A caracterização molecular foi essencial para confirmar a classificação das espécies (*Eugenia selloi* e *E. subreticulata*).

A diversidade genética dentro de cada espécie pode ser considerada baixa e devem-se adotar estratégias de conservação vegetal.

A análise da diversidade química dos óleos essenciais das espécies individualmente demonstrou a formação de três grupos químicos na espécie *Eugenia subreticulata* e dois grupos químicos na *E. selloi*.

4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured, 2007. 469 p.

ÁLVARES-CARVALHO, S. V.; DUARTE, J. F.; SANTOS, T. C.; SANTOS, R. M.; SILVA-MANN, R.; CARVALHO, D. Structure and genetic diversity of natural Brazilian pepper populations (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Genetics and molecular research**, v. 15, n. 2, p. 1-13, 2016.

ALVES, M. F.; NIZIO, D. A.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, T. S.; SILVA, A. V., ARRIGONI-BLANK, M. F.; CARVALHO, S.V.A.; BLANK, A. F. Analysis of genetic diversity of a native population of *Myrcia lundiana* Kiaersk. plants using ISSR markers. **Genetics and molecular research**, v. 15, n. 4, p. 1-10, 2016a.

ALVES, M. F.; NIZIO, D. A. C.; SAMPAIO, T. S.; NASCIMENTO JUNIOR, A. F.; BRITO, F.A.; MELO, J. O.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; GAGLIARDI, P. R.; MACHADO, S. M. F.; BLANK, A. F. *Myrcia lundiana* Kiaersk native populations have different essential oil composition and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 266-273, 2016b.

BALLESTA, P.; MORA, F.; CONTRERAS-SOTO, R. I.; RUIZ, E.; PERRET, S. Analysis of the genetic diversity of *Eucalyptus cladocalyx* (sugar gum) using ISSR markers. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 2, p. 133-140, 2015.

BANDEIRA, J. M.; BARBOSA, F. F.; BARBOSA, L. M. P.; RODRIGUES, I. C. S.; BACARIN, M. A.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 2, p. 157-164, 2011.

BARREIRA, S.; SEBBENN, A. M.; SCOLFORO, J. R. S.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade genética e sistema de reprodução em população nativa de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish sob exploração. **Scientia Forestalis**, v. 71, p.119-130, 2006.

BARRERO, A. F.; HERRADOR, M. M.; DEL MORAL, J. F. Q.; ARTEAGA, P.; MEINE, N.; PÉREZ-MORALES, M. C.; CATALÁN, J. V. Efficient synthesis of the anticancer β -elemene and other bioactive elemenes from sustainable germacrone. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 9, n. 4, p. 1118-1125, 2011.

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

BLANK, A. F.; SANT'ANA, T. C. P.; SANTOS, P.S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; PRATA, A. P. N.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B. Chemical characterization of the essential oil from patchouli accessions harvested over four seasons. **Industrial Crops and Products**, v. 34, p. 831-837, 2011.

BORBA, R. S.; GARCIA A, M. S.; KOVALLESKI, A.; OLIVEIRA, A. C.; ZIMMER, P. D.; BRANCO, J. S. C.; MALONE, G. Dissimilaridade genética de linhagens de *Trichogramma Westwood* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) através de marcadores moleculares ISSR. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 4, p. 565-569, 2005.

BRUNCHAULT, R. V.; SOULANGE, J. G.; SANMUKHIYA, V. M. R.; SEVATHIAN, J. C. Molecular and bioactive profiling of selected *Eugenia* species from Mauritius Island. **International Journal of Plant Biology**, v. 5, n. 1, p.1-6, 2014.

CELESTINO, R. S.; ZUCCHI, M. I.; PINHEIRO, J. B.; CAMPOS, J. B.; PEREIRA, A. A.; BIANCHINI, F. G.; LIMA, R. N.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F. Molecular and chemical characterization of vetiver, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty, germplasm. **Genetics and molecular research**, v.14, n.3, p. 9452–9468, 2015.

CHAGAS, K. P. T.; SOUSA, F. R.; FAJARDO, C. G.; VIEIRA, A. F. Seleção de marcadores ISSR e diversidade genética em uma população de *Elaeis guineensis*. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 10, n. 1, p. 147-152, 2015.

CHAIIEB, K.; ZMANTAR, T.; KSOURI, R.; HAJLAOUI, H.; MAHDOUANI, K.; ABDELLY, C.; BAKHROUF, A. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. **Mycoses**, v. 50, n. 5, p. 403–406, 2007.

COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; SANTOS, A. R. F.; SILVA JÚNIOR, J. F. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.46, n.5, p.499-508, 2011.

CRUZ C. D. Genes - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DIAS, C. N.; RODRIGUES, K. A. F.; RESPLANDES, S. M.; AGUIAR, L. R.; AMARAL, F. M. M.; MORAES, D. F. C. Caracterização farmacobotânica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE) coletadas em São Luís–MA, Brasil. **Revista Ciência e Saúde**, v.14, n.2, p. 95-102, 2012.

DOBEŠ, C.; KONRAD, H.; GEBUREK, T. Potential population genetic consequences of habitat fragmentation in central european forest trees and associated understorey species - An introductory survey. **Diversity**, v.9, n. 1, p. 1-24, 2017.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2012.

ESTANISLAU, A. A.; BARROS, F. A. S.; PEÑA, A. P.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.

ESTOPA, R. A.; SOUZA, A. M.; MOURA, M. C. O.; BOTREL, M. C. G.; MENDONÇA, E. G.; CARVALHO, D. Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) Macleish). **Scientia Forestalis**, v. 70, p. 97-106, 2006.

FERREIRA, D.F. SISVAR versão 4.2. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2003.

GALHEIGO, M. R. U.; PRADO, L. C. D. S.; MUNDIN, A. M. M.; GOMES D. O.; CHANG, R.; LIMA, A. M. C.; CANABRAVA, H. A. N.; BISPO-DA-SILVA, L. B. Antidiarrhoeic

effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. **Natural product research**, v. 30, n. 10, p. 1182-1185, 2015.

GILLIES, A. C. M.; CORNELIUS, J. P.; NEWTON, A. C.; NAVARRO, C.; HERNÁNDEZ, M.; WILSON, J. Genetic variation in Costa Rican populations of the tropical timber species *Cedrela odorata* L., assessed using RAPDs. **Molecular Ecology**, v.6, p.1133-1145, 1997.

GONÇALVES, L. O.; PINHEIRO, J. B.; ZUCCHI, M. I.; SILVA-MANN, R. Caracterização genética de mulungu (*Erythrina velutina* Willd.) em áreas de baixa ocorrência. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 290-298, 2014.

GRDIŠA, M.; BABIĆ, S.; PERIŠA, M.; CAROVIĆ-STANKO, K.; KOLAK, I.; LIBER, Z.; JUG-DUJAKOVIĆ, M.; SATOVIC, Z. Chemical diversity of the natural populations of *Dalmatian Pyrethrum* (*Tanacetum cinerariifolium* (TREVIR.) SCH. BIP.) in Croatia. **Chemistry & biodiversity**, v. 10, n. 3, p. 460-472, 2013.

HADIAN, J.; EBRAHIMI, S. N.; MIRJALILI, M. H.; AZIZI, A.; RANJBAR, H.; FRIEDT, W. Chemical and Genetic Diversity of *Zataria multifloraboiss.* Accessions Growing Wild in Iran. **Chemistry & biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 176-188, 2011.

HUBISZ, M. J.; FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J. K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. **Molecular ecology resources**, v. 9, n. 5, p. 1322-1332, 2009.

JACCARD, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **Bulletin de la Société vaudoise des sciences naturelles** v. 44, p. 223-270, 1908.

LIMA, D. F.; MAUAD, A. V. S.; SILVA-PEREIRA, V.; CAMARGO SMIDT, E.; GOLDENBERG, R. Species boundaries inferred from ISSR markers in the *Myrcia laruotteana* complex (Myrtaceae). **Plant systematics and evolution**, v. 301, n. 1, p. 353-363, 2014.

MELO, A. S. O que ganhamos confundindo riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 3, p. 21-27, 2008.

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

NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SCKROCH, P.; SANTOS, J. B. Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 120, n. 2, p. 300-306, 1995.

NIZIO, D. A. C.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, T. S.; MELO, J. O.; SILVA, F. L. S.; GAGLIARDI, P. R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANJOS, C. S.; ALVES, P. B.; WISNIEWSKI-JUNIOR, A.; BLANK, A. F. Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq: and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 437-448, 2015.

OVERTON, K. H. **Terpenoids and Steroids**. The Chemical Society, London, Specialist Periodical Reports, Vol. 8, 1978. 283p.

PAKSOY, M. Y.; DIRAZ, E.; DIĞRAK, M.; TUTAR, E.; KARAMAN, Ş. Essential oil composition and antimicrobial activity of two endemic *Kundmannia* SCOP. species from Turkey. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 39-46, 2015.

QUEIROZ, J. M. G.; SUZUKI, M. C. M.; MOTTA, A. P. R.; NOGUEIRA, J. M. R.; CARVALHO, E. M. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 9, n. 2, p. 87-100, 2015.

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

ROHLF, F. NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.01. Exeter Publishing Ltd., Setauket, 2002.

ROSSI, F. S.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. D. F. E.; BRAUWERS, L. R.; SILVA, M. L. D.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f.(Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 42, n. 104, p. 631-639, 2014.

RUSTAIEE, A. R.; YAVARI, A.; NAZERI, V.; SHOKRPOUR, M.; SEFIDKON, F.; RASOULI, M. Genetic diversity and chemical polymorphism of some *Thymus* species. **Chemistry & biodiversity**, v. 10, n. 6, p. 1088-1098, 2013.

SAMPAIO, T. S.; NIZIO, D. A. C.; WHITE, L. A. S.; MELO, J. O.; ALMEIDA, C. S.; ALVES, M. F.; GAGLIARDI, P. R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; JUNIOR, A. W.; SOBRAL, M. E. G.; BLANK, A. F. Chemical diversity of a wild population of *Myrcia ovata* Cambessedes and antifungal activity against *Fusarium solani*. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 196-209, 2016.

SANTANA, I. B. B.; OLIVEIRA, E. J. D.; SOARES FILHO, W. D. S.; RITZINGER, R.; AMORIM, E. P.; COSTA, M. A. P. D. C.; MOREIRA, R. F. C. Genetic variability among umbu-cajazeira accessions by ISSR markers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 868-876, 2011.

SANTOS, D. N.; NUNES, C. F.; SETOTAW, T. A.; PIO, R.; PASQUAL, M.; CANÇADO, G. M. Molecular characterization and population structure study of cambuci: strategy for conservation and genetic improvement. **Genetics and molecular research**, v. 15, n. 4, p. 1-13, 2016.

SILVA, A. P. G.; SOUZA, C. C. E.; RIBEIRO, J. E. S.; SANTOS, M. C. G.; PONTES, A. L. S.; MADRUGA, M. S. Características físicas, químicas e bromatológicas de palma gigante (*Opuntia ficus-indica*) e miúda (*Nopalea cochenillifera*) oriundas do Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.9, n.2, p.1810-1820, 2015.

SILVA, D. C.; DINIZ, L. E. C.; BLANK, A. F.; NIZIO, D. A. C.; PINTO, J. A. O.; PEREIRA, K.L.G.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Assessment of genetic diversity of a native population of *Eplingiella fruticosa*: a plant with therapeutic potential. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n. 3, p. 1-15, 2017.

SILVA, J. K. R.; ANDRADE, E. H. A.; BARRETO, L. H.; DA SILVA, N. C. F.; RIBEIRO, A. F.; MONTENEGRO, R. C.; MAIA, J. G. S. Chemical Composition of Four Essential Oils of *Eugenia* from the Brazilian Amazon and Their Cytotoxic and Antioxidant Activity. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 51, 2017.

SILVA, K. V. P.; ALVES A. A. C.; MARTINS, M. I. G.; MELO, C.A.F.; CARVALHO, R. Variabilidade genética entre plantas do gênero *Manihot* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1082-1088, 2011.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, n. 1, p.73-94, 2011.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, v. 34, n. 3, p. 7-16, 2009.

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

WANG, Y.; AHMAD, B.; DUAN, B.; ZENG, R.; HUANG, L. Chemical and Genetic Comparative Analysis of *Gentiana crassicaulis* and *Gentiana macrophylla*. **Chemistry & biodiversity**, v. 13, n. 6, p. 776-781, 2016.

5. ANEXOS

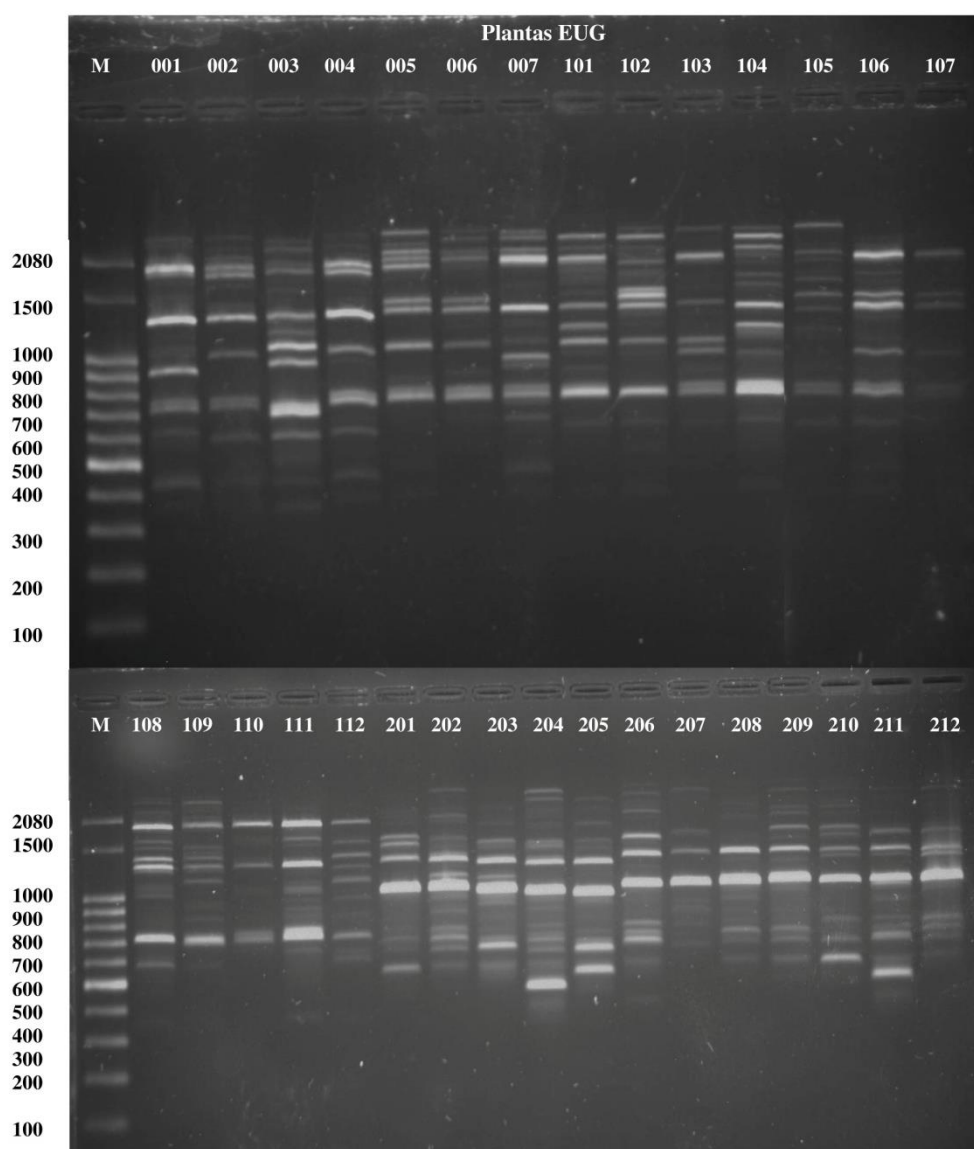


Figura 1A. Géis de agarose mostrando os perfis eletroforéticos de ISSR amplificado utilizando iniciador GOOFY em *Eugenia* spp. do Estado de Sergipe, Brasil.

Table 1A. Matriz gerada com base no coeficiente de similaridade Jaccard para *Eugenia* spp. do Estado de Sergipe, Brasil.

Individuos	EUG 001	EUG 002	EUG 003	EUG 004	EUG 005	EUG 006	EUG 007	EUG 101	EUG 102	EUG 103	EUG 104	EUG 105	EUG 106	EUG 107	EUG 108	EUG 109	EUG 110	EUG 111	EUG 112	EUG 201	EUG 202	EUG 203	EUG 204	EUG 205	EUG 206	EUG 207	EUG 208	EUG 209	EUG 210	EUG 211	EUG 212
EUG-001	-																														
EUG-002	0,56	-																													
EUG-003	0,57	0,68	-																												
EUG-004	0,49	0,79	0,66	-																											
EUG-005	0,53	0,79	0,71	0,69	-																										
EUG-006	0,52	0,77	0,63	0,62	0,83	-																									
EUG-007	0,54	0,69	0,59	0,56	0,67	0,70	-																								
EUG-101	0,49	0,61	0,57	0,51	0,58	0,62	0,61	-																							
EUG-102	0,47	0,64	0,68	0,58	0,69	0,66	0,59	0,63	-																						
EUG-103	0,51	0,59	0,51	0,53	0,57	0,51	0,53	0,47	0,60	-																					
EUG-104	0,40	0,58	0,54	0,49	0,57	0,52	0,51	0,56	0,60	0,54	-																				
EUG-105	0,42	0,57	0,50	0,51	0,60	0,55	0,50	0,44	0,61	0,57	0,52	-																			
EUG-106	0,44	0,60	0,55	0,50	0,59	0,49	0,51	0,47	0,60	0,68	0,57	0,65	-																		
EUG-107	0,40	0,60	0,49	0,51	0,59	0,52	0,49	0,43	0,56	0,64	0,53	0,64	0,89	-																	
EUG-108	0,48	0,65	0,64	0,57	0,60	0,57	0,50	0,52	0,65	0,65	0,60	0,57	0,69	0,64	-																
EUG-109	0,42	0,65	0,52	0,52	0,60	0,58	0,53	0,52	0,59	0,67	0,52	0,65	0,65	0,60	0,67	-															
EUG-110	0,38	0,51	0,46	0,42	0,48	0,45	0,50	0,38	0,44	0,45	0,41	0,44	0,45	0,43	0,44	0,50	-														
EUG-111	0,43	0,49	0,50	0,44	0,46	0,48	0,54	0,41	0,47	0,53	0,44	0,48	0,48	0,43	0,46	0,52	0,72	-													
EUG-112	0,42	0,56	0,58	0,51	0,52	0,51	0,52	0,46	0,55	0,56	0,49	0,45	0,52	0,48	0,52	0,52	0,53	0,65	-												
EUG-201	0,47	0,46	0,49	0,46	0,47	0,47	0,45	0,41	0,41	0,41	0,43	0,47	0,40	0,37	0,44	0,42	0,43	0,41	0,48	-											
EUG-202	0,39	0,38	0,40	0,36	0,40	0,38	0,40	0,35	0,36	0,42	0,36	0,40	0,38	0,35	0,33	0,37	0,34	0,37	0,39	0,60	-										
EUG-203	0,38	0,41	0,44	0,35	0,37	0,42	0,42	0,38	0,38	0,40	0,41	0,42	0,40	0,36	0,39	0,42	0,42	0,45	0,44	0,63	0,71	-									
EUG-204	0,43	0,46	0,50	0,49	0,48	0,52	0,43	0,44	0,52	0,43	0,46	0,50	0,44	0,42	0,45	0,40	0,39	0,43	0,47	0,64	0,51	0,57	-								
EUG-205	0,33	0,44	0,46	0,43	0,43	0,48	0,46	0,42	0,44	0,40	0,37	0,37	0,40	0,38	0,44	0,43	0,40	0,49	0,52	0,48	0,45	0,49	0,57	-							
EUG-206	0,45	0,47	0,53	0,51	0,48	0,48	0,47	0,49	0,51	0,48	0,42	0,47	0,48	0,44	0,48	0,48	0,43	0,48	0,49	0,60	0,56	0,57	0,67	0,59	-						
EUG-207	0,44	0,53	0,48	0,50	0,52	0,51	0,48	0,45	0,48	0,49	0,43	0,46	0,44	0,45	0,46	0,46	0,47	0,42	0,48	0,54	0,54	0,53	0,60	0,47	0,60	-					
EUG-208	0,38	0,38	0,45	0,43	0,38	0,39	0,43	0,38	0,40	0,43	0,31	0,38	0,38	0,37	0,37	0,38	0,40	0,47	0,40	0,49	0,62	0,51	0,53	0,52	0,59	0,56	-				
EUG-209	0,37	0,43	0,42	0,40	0,42	0,43	0,45	0,40	0,39	0,37	0,36	0,39	0,35	0,33	0,32	0,39	0,43	0,45	0,41	0,49	0,64	0,67	0,58	0,54	0,56	0,60	0,65	-			
EUG-210	0,33	0,38	0,37	0,38	0,40	0,40	0,41	0,38	0,38	0,38	0,33	0,35	0,33	0,29	0,34	0,41	0,35	0,39	0,40	0,51	0,58	0,54	0,50	0,48	0,56	0,57	0,57	0,66	-		
EUG-211	0,40	0,45	0,46	0,43	0,42	0,47	0,45	0,43	0,46	0,47	0,41	0,42	0,43	0,39	0,42	0,44	0,45	0,49	0,46	0,55	0,57	0,67	0,62	0,46	0,64	0,64	0,60	0,59	0,63	-	
EUG-212	0,36	0,40	0,39	0,41	0,40	0,44	0,44	0,41	0,40	0,43	0,34	0,34	0,36	0,32	0,39	0,40	0,41	0,43	0,40	0,49	0,52	0,59	0,61	0,54	0,67	0,60	0,56	0,64	0,74	0,73	-