



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

**PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE ERVA-BALEEIRA
(*Varronia curassavica* Jacq.): EXTRATO AQUOSO, ÓLEO
ESSENCIAL, REBROTA, COLHEITA EM DUAS ÉPOCAS E
ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA SOBRE *Ichthyophthirius*
*multifiliis***

VANDERSON DOS SANTOS PINTO

**SÃO CRISTÓVÃO-SE
2022**



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

VANDERSON DOS SANTOS PINTO

PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE ERVA-BALEEIRA (*Varronia curassavica* Jacq.): EXTRATO AQUOSO, ÓLEO ESSENCIAL, REBROTA, COLHEITA EM DUAS ÉPOCAS E ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA SOBRE *Ichthyophthirius multifiliis*

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

Orientador
Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2022

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

P659p Pinto, Vanderson dos Santos
Progênes de meios-irmãos de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.): extrato aquoso, óleo essencial, rebrota, colheita em duas épocas e atividade antiprotozoária sobre *Ichthyophthirius multifiliis*. Vanderson dos Santos Pinto. – São Cristóvão, 2022.
84 f.: il.

Tese (Doutorado em Agricultura e Biodiversidade) – Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade, Universidade Federal de Sergipe, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank

1. Cordiaceae. 2. *Varronia curassavica*. 3. Seleção recorrente. 4. *Ichthyophthirius multifiliis*. I. Arie Fitzgerald Blank

CDU 633.812

VANDERSON DOS SANTOS PINTO

PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE ERVA-BALEEIRA (*Varronia curassavica* Jacq.): EXTRATO AQUOSO, ÓLEO ESSENCIAL, REBROTA, COLHEITA EM DUAS ÉPOCAS E ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA SOBRE *Ichthyophthirius multifiliis*

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

APROVADA em 28 de março de 2022.

Prof. Dr. Alexandre Nizio Maria
EMBRAPA

Prof^a. Dr^a. Daniela Aparecida de Castro Nizio
UFS

Prof. Dr. José Luiz Sandes de Carvalho Filho
UFRPE

Prof^a. Dr^a. Maria das Graças Cardoso
UFLA


Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank
UFS
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*Aos meus pais, ao GPMACO e
amigos
Dedico*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Sergipe e ao CNPq pela oportunidade de ingressar na vida acadêmica de financiarem todas as pesquisas que desenvolvi desde a graduação até o Doutorado.

A Deus, por me proporcionar paciência e forças para conseguir executar todos os projetos que me foram destinados até hoje e de ter-me dado forças para vencer todas as dificuldades que passei desde minha infância até agora.

Aos meus pais por toda educação que me deram durante esses anos, que foi importante para minha formação como homem. Ao meu irmão Diego, por toda amizade e companheirismo nas horas difíceis.

Aos meus professores do ensino básico, fundamental, médio e superior que contribuíram de forma significativa para o ser humano ético e educado que sou hoje, como também, o incentivo em todos os momentos de desânimo.

A todos os membros do grupo de pesquisa em plantas medicinais, aromáticas, condimentares e olerícolas (GPMACO), nesses anos de amizade, em especial Elizângela, Camila, Mércia, Sara, Itamara, a minha amiga Jéssika Andreza pelo apoio de sempre; Alea, Larissa, Hyrla, Faby, Lucas, Katily, Tais, Juliana Oliveira, Ianca, Luiz Fernando, Carlos, Leticia e todos os membros que passaram pelo grupo e que contribuíram nesse trabalho.

Ao meu orientador, Arie Fitzgerald Blank, pela confiança nesses quase doze anos de trabalho, que sempre acreditou na minha capacidade e colocou sobre minha responsabilidade projetos que pensei que não iria conseguir executar, mas que suas sábias palavras sempre me motivaram a continuar avançando e estudando para atingir as metas.

Aos meus eternos mentores e co-orientadores, Daniela, Magna, Alisson, Rodrigo e Thiago pela amizade e ensinamentos durante todos esses anos.

Aos funcionários da Fazenda Experimental “Campus Rural da UFS” pela amizade e ajuda de sempre nos meus experimentos.

A toda equipe da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) por toda parceria, estrutura e ajuda na realização desses experimentos.

A todos os alunos da turma 2010 de Engenharia Agrônômica da UFS, pela amizade e cumplicidade durante esses cinco anos de curso, em especial, meus grandes amigos (a) Ane, Morgana, Alexandre, Abraão, Jefferson meu irmão de graduação, Jean, Túlio, Ancelmo e Pedro Rabelo pela amizade e experiências compartilhadas na área durante esse tempo.

A todos os integrantes do laboratório de cultura de tecidos, em especial, a professora Fátima que sempre me recebeu muito bem e foi atenciosa em tirar minhas dúvidas.

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

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização desse trabalho.

Obrigado

BIOGRAFIA

VANDERSON DOS SANTOS PINTO, filho de Ivonete Francisca do Santos Ferreira e Valdir Gabriel Pinto, nasceu em São Caetano do Sul, no Estado de São Paulo, e mudou-se para Estância-SE, ainda na infância, onde reside até o momento.

Cursou o ensino fundamental na Escola Municipal Laura Cardoso Costa/Escola Estadual Gilson Amado e ensino médio na Escola João Batista da Rocha/SESI, em Estância-SE, onde concluiu no ano de 2009. Ingressou no curso de Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Sergipe, no ano de 2010, concluindo em 2015 a graduação. Durante a graduação, desenvolveu projetos de conservação de germoplasma de *Lippia alba* (2011) e o programa de melhoramento de *Ipomoea batatas* (2012-2015) como bolsista de iniciação científica e tecnológica sob orientação do professor Eng. Agr. Dr. Arie Fitzgerald Blank-UFS. Foi monitor voluntário nas disciplinas de entomologia agrícola 1: geral e entomologia agrícola 2: manejo de pragas durante a graduação por dois períodos.

Foi coordenador de relações públicas e presidente da Associação de Estudante Federais da cidade de Estância-SE (ASEFE) nas gestões de 2012 e 2015. Tornou-se pioneiro na elaboração e início do projeto de biblioteca pública e sala de aula para pessoas analfabetas na cidade, além disso, criou o programa de transparência financeira e redução da inadimplência na instituição.

Ingressou no curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade (PPGAGRI/UFS), no ano de 2015, pela Universidade Federal de Sergipe, onde conduziu o programa de melhoramento de *Lippia alba* visando controle da formiga cortadeira. Participou do colegiado como representante discente de mestrado no período 2016-2017.

Ingressou no curso de Doutorado em Agricultura e Biodiversidade (PPGAGRI/UFS), no ano de 2017, pela mesma instituição, onde conduziu o programa de melhoramento de *Varronia curassavica*.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
4. ARTIGO 1: PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA DA ÁGUA RESIDUAL DA HIDRODESTILAÇÃO DE <i>Varronia curassavica</i>	22
Resumo	22
Abstract	23
4.1. Introdução	23
4.2. Material e Métodos	24
4.3. Resultados	25
4.4. Discussão	26
4.5. Conclusões	27
4.6. Referências Bibliográficas	27
5. ARTIGO 2: DESEMPENHO DE PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE <i>Varronia curassavica</i> : ANÁLISES MORFOAGRONÔMICAS, QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA CONTRA <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	33
Resumo	33
Abstract	34
5.1. Introdução	34
5.2. Material e Métodos	35
5.3. Resultados	37
5.4. Discussão	39
5.5. Conclusões	42
5.6. Referências Bibliográficas	42
6. ARTIGO 3: DESEMPENHO DE PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE <i>Varronia curassavica</i> Jacq. COLHIDAS EM DUAS ÉPOCAS	61
Resumo	61
Abstract	62
6.1. Introdução	62
6.2. Material e Métodos	63
6.3. Resultados	65
6.4. Discussão	67
6.5. Conclusões	69
6.6. Referências Bibliográficas	69
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
ANEXOS	82

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura		Página
1	Perfil cromatográfico da solução residual da hidrodestilação do óleo essencial de dois acessos de <i>Varronia curassavica</i>	30
2	Cromatograma de LC-UV da água residual da hidrodestilação de óleo essencial de dois acessos de <i>Varronia curassavica</i> . (1) ácido fenólico; (2) ácido fenólico; (3) não indetificado; (4) flavonoide; (5) ácido fenólico; (6) flavonoide; (7) flavonoide; (8) flavonoide; (9) flavonoide; (10) flavonoide; (11) não indetificado-I; (12) não indetificado-II; (13) ácido fenólico; (14) flavonoide	31

ARTIGO 2

Figura		Página
1	Dendrograma bidimensaional representando a similaridade entre 88 progênes de meios-irmãos e parental de <i>Varronia curassavica</i> para os descritores morfológicos do programa de melhoramento da UFS para as características morfológicas	48
2	Distribuição das variáveis morfológicas do parental e progênes de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i> em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP). AL: Altura de planta (cm); DCO: Diâmetro da copa (cm); CP: Comprimento do pecíolo (cm); CF: Comprimento da folha (cm); LF: Largura da folha (cm); CI: Comprimento do internódio (cm); DC: Diâmetro do caule (cm); AF: Área foliar (cm ²)	50
3	Dendrograma bidimensional representando a similaridade do parental e de 88 progênes de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i> para a composição química do óleo essencial	54
4	Média dos constituintes do óleo essencial para os grupos I e II do parental e suas progênes de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i>	55
5	Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial do parental e progênes de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i> em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP) .	56

ARTIGO 3

Figura		Página
1	Médias de precipitação e temperatura da área experimental entre os anos de 2018 e 2019	72
2	Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre parental e progênes de meios-imãos do programa de melhoramento de <i>Varronia curassavica</i> da UFS, para a composição química do óleo essencial para época seca (A) e chuvosa (B)	78
3	Média dos principais constituintes do óleo essencial do parental e progênes de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i> de acordo com os grupos I e II formados nas épocas seca (A) e chuvosa (B)	79
4	Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial do parental e progênes de <i>Varronia curassavica</i> em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP) para as épocas seca (A) e chuvosa (B)	80

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela	Página
1 Compostos fenólicos presentes na água residual da hidrodestilação de óleo essencial de dois acessos de <i>Varronia curassavica</i>	32
2 Toxicidade (CL ₅₀ e CL ₉₀) da água residual da hidrodestilação do óleo essencial de dois acessos de <i>Varronia curassavica</i> sobre trofontes de <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> após 4h de exposição.....	32
3 Toxicidade (CL ₅₀ e CL ₉₀) da água residual da hidrodestilação do óleo essencial de dois acessos de <i>Varronia curassavica</i> sobre tomontes de <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> após 4h de exposição.....	32

ARTIGO 2

Tabela	Página
1 Largura (LF) e Comprimento (CF) da folha, Comprimento do Pecíolo (CP), Área Foliar (AF), Altura da planta (AL), Diâmetro do caule (DC), Comprimento do internódio (CI) e Diâmetro de copa (DCO) de 88 progênies de meios-irmãos e parental de <i>Varronia curassavica</i>	46
2 Média $\pm$ desvio Padrão para altura de planta, diâmetro de copa, largura e comprimento da folha, comprimento do pecíolo, comprimento do internódio, diâmetro do caule e área foliar de 88 progênies de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i>	49
3 Massa seca de folhas (MSF), Teor (TOE) e Rendimento (ROE) de óleo essencial das 72 progênies de meios-irmãos selecionadas e o parental de <i>Varronia curassavica</i> da UFS.....	51
4 Coeficiente de correlação de Pearson Largura (LF) e Comprimento (CF) da folha, Comprimento do Pecíolo (CP), Área Foliar (AF), Altura da planta (AL), Diâmetro do caule (DC), Comprimento do internódio (CI) e Diâmetro de copa (DCO), Massa seca de folhas (MSF), Teor (OE) e rendimento (ROE) óleo essencial de 72 progênies de meios-irmãos selecionadas e parental de <i>Varronia curassavica</i>	53
5 Teor de (E)-cariofileno e viridiflorol de 88 progênies de meios-irmãos e parental de <i>Varronia curassavica</i>	57
6 Toxicidade do óleo essencial de progênies de meios-irmãos e parental do programa de melhoramento de <i>Varronia curassavica</i> sobre o protozoário <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> na concentração de 10 mg/L após 1h de exposição.....	59
7 Correlação entre os compostos presentes no parental (VCUR-503) e progênies de meios-imrãos de <i>Varronia curassavica</i> (VCUR-503-44, VCUR-503-66, VCUR-503-91, VCUR-503-503-101, VCUR-503-119) e a mortalidade do <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	60

ARTIGO 3

Tabela		Página
1	Massa seca de folhas e inflorescências (MSF), Teor (TOE) e Rendimento (ROE) de óleo essencial de progênies de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i> para duas épocas de colheita (seca e chuvosa)	73
2	Constituintes químicos (C01 a C48) do óleo essencial de progênies de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i> colhidos na época seca (Janeiro/2019) em São Cristóvão-SE	74
3	Constituintes químicos (C01 a C48) do óleo essencial de progênies de meios-irmãos de <i>Varronia curassavica</i> colhidos na época chuvosa (Junho/2019) em São Cristóvão-SE	76

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

FAO	Organização para Alimentação e Agricultura
OMS	Organização Mundial da Saúde
EssOilDB	Banco de Dados de Óleo essencial
UFS	Universidade Federal de Sergipe
CGEM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas
CL	Cromatografia líquida

RESUMO

PINTO, Vanderson dos Santos. **Progênes de meios-irmãos de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.): extrato aquoso, óleo essencial, rebrota, colheita em duas épocas e atividade antiprotozoária sobre *Ichthyophthirius multifiliis***. São Cristóvão: UFS, 2022. 84p. (Tese - Doutorado em Agricultura e Biodiversidade)*

A espécie medicinal e aromática *Varronia curassavica* apresenta grande diversidade química. Os compostos *E*-cariofileno e viridiflorol, constituintes do óleo essencial da espécie conferem expressiva atividade antiprotozoária contra o *Ichthyophthirius multifiliis* causador da doença de “pontos brancos” em peixes. Esse parasita provoca redução da produtividade e sobrevivência do peixe em ambiente de cultivo. O melhoramento genético é uma das principais formas de obtenção de cultivares de plantas aromáticas com alto teor de compostos de interesse visando a aplicação industrial e adaptadas às condições climáticas do país. Além disso, a água residual obtida após o processo de extração do óleo essencial por hidrodestilação também pode ser útil no controle desse parasita. Com isso, o objetivo desse trabalho foi obter e avaliar progênes de meios-irmãos de *V. curassavica*, obter e avaliar a água residual (que foi denominada extrato aquoso) produzida na hidrodestilação de dois acessos, os óleos essenciais, a rebrota, a colheita em duas épocas e a atividade antiprotozoária sobre *I. multifiliis*. Os ensaios foram conduzidos na fazenda experimental “Campus Rural da UFS” e na Embrapa tabuleiros Costeiros. Para o primeiro ensaio foi avaliada a composição química e a atividade antiprotozoária do extrato aquoso obtido na hidrodestilação dos acessos VCUR-202 e VCUR-503 sobre o protozoário *I. multifiliis*. No segundo experimento avaliou-se as progênes de meios-irmãos obtidas de sementes colhidas nas plantas do acesso VCUR-503, quimiotipo *E*-cariofileno e viridiflorol. Foram avaliadas 88 progênes de meios-irmãos e o acesso genitor feminino (VCUR-503) quanto às características morfoagronômicas, química e atividade antiprotozoária. No terceiro ensaio avaliou-se a influência da colheita em duas épocas (seca e chuvosa) no teor, rendimento e composição química do óleo essencial das progênes de meios-irmãos. O extrato aquoso obtido de ambos acessos de *V. curassavica* se mostraram tóxicos ao *I. multifiliis*, com CL_{50} de 150,46 mg.L⁻¹ para VCUR-202 e 121,67 mg.L⁻¹ para VCUR-503 em trofontes; e CL_{50} para a fase tomonete de 199,63 mg.L⁻¹ para VCUR-202 e 122,65 mg.L⁻¹ para VCUR-503. A análise de agrupamento morfológico indicou a presença de dois grupos distintos morfologicamente. Para o teor de óleo essencial 71% das progênes de meios-irmãos foram superiores ao parental VCUR-503. A análise de agrupamento químico evidenciou a formação de dois grupos, sendo o grupo II formado por 22 progênes com maiores médias dos compostos α -pineno (7,92%), *E*-cariofileno (7,77%) e viridiflorol (46,74%). Progênes de meios-irmãos com teores de viridiflorol entre 42,41% e 64,74% proporcionaram mortalidade do protozoário na concentração de 10 mg.L⁻¹ que variaram entre 35% e 72%. Observou-se que a progênie com maior teor de viridiflorol, não foi a que causou maior mortalidade do protozoário. Verificou-se que além do *E*-cariofileno, outros compostos podem atuar de forma sinérgica com o viridiflorol, enquanto compostos como α -pineno e germacreno D, podem atuar de forma antagônica, reduzindo a atividade antiprotozoária do óleo essencial. Dois grupos químicos também foram observados em ambas épocas de colheita das progênes de meios-irmãos, o Grupo I rico em α -pineno e *E*-cariofileno, e Grupo II contendo α -pineno, *E*-cariofileno e viridiflorol. O parental VCUR-503 e 14 progênes tiveram produção de óleo essencial superior na época seca. Em média, o composto *E*-cariofileno foi produzido em maior quantidade na época chuvosa, enquanto o viridiflorol foi maior na época seca.

Palavras-chave: *Varronia curassavica*; melhoramento vegetal; óleo essencial; água residual; sazonalidade; *Ichthyophthirius multifiliis*.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank – UFS (Orientador), Alexandre Nizio Maria – Embrapa (Co-orientador).

ABSTRACT

PINTO, Vanderson dos Santos. **Half-sib progenies of tropical black sage (*Varronia curassavica* Jacq.): aqueous extract, essential oil, regrowth, harvest in two seasons and antiprotozoal activity against *Ichthyophthirius multifiliis***. São Cristóvão: UFS, 2022. 84p. (Thesis – Doctor of Science in Agriculture and Biodiversity)*

The chemical diversity of the medicinal and aromatic species *Varronia curassavica* is exceptionally rich. The essential oil of the species contains (E)-caryophyllene and viridiflorol compounds, which confer strong antiprotozoal activity against *Ichthyophthirius multifiliis*, the causal agent of the so-called white spot disease in fish. This parasite reduces fish productivity and survival in environments of fish cultivation. Breeding is one of the main ways of developing aromatic plant cultivars with high contents of compounds of interest for industrial application and adapted to the climatic conditions of the country. In addition, the residual water obtained after extraction of essential oils by hydrodistillation can also be useful in controlling the above parasite. The objective of this study was therefore to establish and evaluate half-sib progenies of *V. curassavica*, to extract and evaluate the residual water (here called aqueous extract) from hydrodistillation of two accessions, and to assess the essential oil contents, regrowth, harvest in two seasons and antiprotozoal activity on *I. multifiliis*. Testing was carried out at the experimental farm Campus Rural of the Federal University of Sergipe (UFS) and on the premises of Embrapa Coastal Tablelands. The first assay evaluated the chemical composition and antiprotozoal activity of the aqueous extract obtained by hydrodistillation from *V. curassavica* accessions VCUR-202 and VCUR-503 on the protozoan *I. multifiliis*. The second experiment evaluated half-sib progenies grown from seeds harvested from plants of accession VCUR-503 (chemotype (E)-caryophyllene and viridiflorol). The morphoagronomic and chemical characteristics and antiprotozoal activity against *I. multifiliis* were evaluated in 88 half-sib progenies and the female parent (VCUR-503). In the third trial, the influence of the growing season (dry or rainy) on essential oil contents, production and chemical composition in the half-sib progenies was assessed. The aqueous extract from both *V. curassavica* accessions proved toxic to *I. multifiliis*, at a level of $LC_{50} = 150.46 \text{ mg.L}^{-1}$ for VCUR-202 and 121.67 mg.L^{-1} for VCUR-503 in trophozoites; and for the tomont phase at $LC_{50} = 199.63 \text{ mg.L}^{-1}$ for VCUR-202 and 122.65 mg.L^{-1} for VCUR-503. Morphological cluster analysis indicated the presence of two morphologically distinct groups. Of the half-sib progenies, 71% had higher essential oil contents than parent VCUR-503. Chemical cluster analysis formed two groups, of which group II comprised 22 half-sib progenies with high means of α -pinene (7.92%), (E)-caryophyllene (7.77%) and viridiflorol (46.74%). Progenies with viridiflorol contents between 42.41% and 64.74% induced protozoan mortality between 35% and 72%, at a viridiflorol concentration of 10 mg.L^{-1} . Interestingly, the progeny with the highest viridiflorol content did not cause the highest protozoan mortality. In addition to (E)-caryophyllene, other compounds can act synergistically with viridiflorol, while compounds such as α -pinene and germacrene D can act antagonistically, reducing the antiprotozoal activity of the essential oil. Two chemical groups were also observed in both growing seasons of the half-sib progenies: Group I, rich in α -pinene and (E)-caryophyllene and Group II, with α -pinene, (E)-caryophyllene and viridiflorol. Higher essential oil contents were produced by parent VCUR-503 and 14 half-sib progenies in the dry season. In the mean, higher contents of compound (E)-caryophyllene were produced in the rainy and of viridiflorol in the dry season.

Key words: *Varronia curassavica*; plant breeding; essential oil; aqueous extract; seasonality; *Ichthyophthirius multifiliis*.

* Guidance Committee: Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank – UFS (Advisor), Alexandre Nizio Maria – Embrapa (Adjunct advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

A *Varronia curassavica* Jacq. é uma espécie aromática, arbustiva e alógama com grande importância farmacológica e medicinal. É uma planta originária do Brasil, no entanto, possui comportamento cosmopolita, sendo encontrada em diversas regiões do mundo (GASPARINO e BARROS, 2009).

Essa espécie apresenta atividade biológica sobre pragas de importância agrícola e zootécnica, como por exemplo, sobre o protozoário *Ichthyophthirius multifiliis*, que se destaca entre os principais causadores de doença em peixes, sendo o agente causal da doença de pontos brancos em peixes ornamentais e cultivados para consumo no Brasil e no mundo (DIAS et al., 2015; BRABO et al., 2016). Atualmente, não existe tratamento eficaz para o controle desse protozoário, no entanto, a *V. curassavica* apresenta-se como uma alternativa possível para o controle desse parasita.

A forma livre do *I. multifiliis*, conhecido por teronte penetra na pele do peixe através das escamas ou brânquias, posteriormente, transforma-se em trofonte e começa a se alimentar do tecido epitelial e do sangue do peixe até atingir sua forma madura chamada de tomonte, que é liberado para o meio. Esse tomonte cria um cisto de proteção contra variações climáticas e químicas da água e gera novas células através do processo mitótico de divisão celular, (TANCREDO, 2015; BRADO et al., 2016).

Uma pesquisa realizada na Universidade Federal de Sergipe, comprovou a eficiência do óleo essencial dos acessos de *V. curassavica* VCUR-503 (viridiflorol/(E)-cariofileno) e VCUR-202 (germacreno-D-4-ol) na mortalidade desse parasita nas fases parasitárias (trofonte) e cística e reprodutiva (tomonte) (NIZIO et al., 2018b).

Varronia curassavica possui aplicação industrial na área farmacológica e o desenvolvimento de cultivares com alto potencial agrônomo e antiprotozoário torna a espécie uma possível fonte de renda para cooperativas em todo o país. Entretanto, por se tratar de genótipos nativos e pouco domesticados, as características fenotípicas (morfoagronômica, química e biológica) apresentam-se pouco produtivas e dificultam sua utilização como matéria-prima no desenvolvimento de futuros fitoterápicos visando o controle desse parasita. Com isso, o desenvolvimento de cultivares através do melhoramento genético torna-se uma alternativa importante na obtenção de materiais produtivos.

A aplicação de métodos de melhoramento na obtenção de genótipos com alta atividade biológica associado a compostos químicos no óleo essencial, já foi comprovado por essa mesma instituição em *Lippia alba* (PINTO, 2017). O método de seleção recorrente com a obtenção de progênies de meios-irmãos torna-se viável, pois, pode promover gradativo acúmulo de alelos favoráveis a biossíntese de compostos presentes no óleo essencial, como também, o aumento do sinergismo entre compostos químicos que proporcionam uma atividade biológica superior. Entretanto, devido a influência de fatores bióticos e abióticos, o óleo essencial pode sofrer alterações significativas na sua composição química e teores. Esse fenômeno já foi verificado por Oliveira et al. (2020) que observaram que as diferenças de precipitação e temperatura ambiental na época de colheita podem influenciar na composição química e nos teores de óleo essencial em genótipos utilizados nesse programa de melhoramento. Além do óleo essencial, a *V. curassavica* apresenta compostos de alto peso molecular que podem apresentar atividades biológicas de interesse agrícola. A solução que sobra no balão ao final do processo de extração do óleo essencial por hidrodestilação é rica em terpenos e flavonoides, entretanto, este coproduto é descartado após o processo, o qual pode apresentar atividades biológicas diversas devido às substâncias que contém.

Nesse sentido, o melhoramento genético pode ser útil para obter cultivares de *V. curassavica* com alto teor de compostos bioativos no óleo essencial e, juntamente com a utilização da solução residual da hidrodestilação podem constituir alternativas para o controle do protozoário *I. multifiliis* na piscicultura. Com isso, o objetivo desse trabalho foi obter e avaliar progênies de meios-irmãos de *V. curassavica*, obter e avaliar a água residual (que foi denominada

extrato aquoso) produzida na hidrodestilação de dois acessos, os óleos essenciais, a rebrota, a colheita em duas épocas e a atividade antiprotozoaria sobre *I. multifiliis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Botânica e usos da *Varronia curassavica* Jacq.

A espécie *Varronia curassavica* é pertencente à família botânica Cordiaceae, inicialmente denominada *Cordia verbenacea* era pertencente à família botânica Boraginaceae (GASPARINO e BARROS, 2009). No entanto, estudos moleculares e botânicos com espécies das subfamílias Ehretioideae, Cordioideae, Helitropioideae e Boraginoideae evidenciaram diferenças genéticas entre os indivíduos desses grupos taxonômicos, que contribuiu para elevação ao nível de família e renomeação da *Cordia verbenaceae* para *V. curassavica* (MILLER e GOTTSCHLING, 2007).



Figura 1. Planta de *Varronia curassavica* do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da UFS.

A família Cordiaceae é uma família complexa sendo considerada monofilética e cosmopolita, ou seja, são descendentes de um ancestral comum e podem ser encontrados em praticamente todas as regiões do mundo como: Ásia, África, Austrália, Guiné e América do Sul. Os principais gêneros abrangidos são *Coldenia*, *Cordia* e *Varronia*, sendo os dois últimos nativos do Brasil. O número de espécies pode chegar a 350 no mundo, das quais, aproximadamente 70 estão distribuídas pelo país (GASPARINO e BARROS, 2009).

Weeks et al. (2010) realizaram estudos moleculares em espécies do gênero *Varronia* endêmicas das ilhas Galápagos no Equador. Essas plantas desenvolveram-se naturalmente na ilha, que possui isolamento territorial da América do Sul pelo Oceano Pacífico. O estudo concluiu que as espécies são originárias da América e migraram para a ilha através de dispersão de longa distância. Através desse estudo é possível entender o comportamento cosmopolita das espécies desse gênero.

No Brasil, a *V. curassavica* é popularmente conhecida como erva-baleeira. As plantas podem ser encontradas desde a região Amazônica até o Rio Grande do Sul, com grande concentração na região litorânea do país. Os principais biomas de ocorrência natural são o Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica, principalmente em estados como Alagoas, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Sergipe (BAYEUX et al., 2002; MENDES et al., 2015; NIZIO et al., 2015).

A espécie possui porte ereto, arbustivo, perene, com muitas ramificações e podem atingir entre 1,5 a 2,5 metros de altura. As folhas são simples, alternas, coriáceas e medem em média 10 cm de comprimento e apresenta odor forte quando maceradas, pois, apresentam tricomas glandulares na subcutícula que armazenam e biossintetizam compostos voláteis presentes no óleo essencial (VENTRELLA e MARINHO, 2008; GASPARINO e BARROS, 2009).

As flores possuem cores brancas e estão dispostas em inflorescências do tipo espiga, com inserção nas extremidades dos ramos. A espécie pode florescer durante todo o ano em regiões tropicais e possuem irregularidade de floração na planta. No entanto, um estudo realizado pela Universidade Federal de Minas Gerais avaliando doze genótipos entre janeiro e dezembro de 2012, comprovou que o período de floração da espécie estende-se de setembro a novembro na região sudeste do país. Em Sergipe devido às altas temperaturas e fotoperíodo, o florescimento ocorre durante todo o ano. Além disso, o período de antese das flores dura cerca de dois meses, sendo acompanhado simultaneamente pela formação dos frutos na espiga (BRANDÃO et al., 2015).

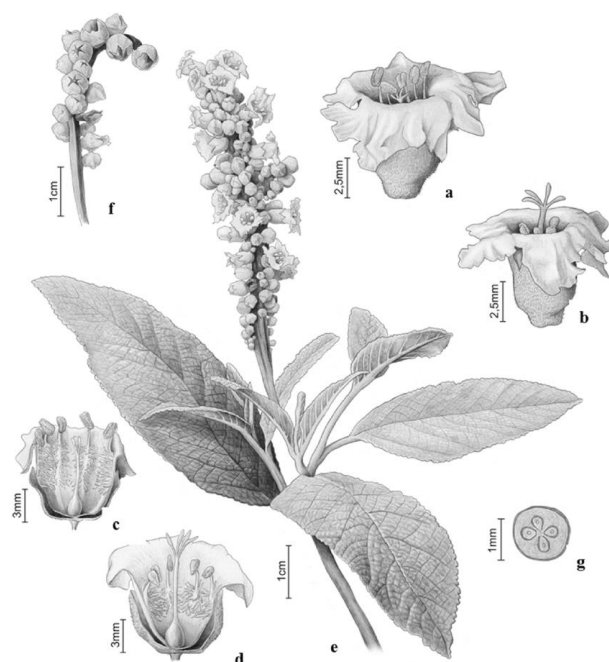


Figura 2. Sistema floral da *Varronia curassavica*. (Fonte: HOELTGEBAUM et al., 2018).

A autoincompatibilidade na espécie foi recentemente confirmada por pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina, que realizaram um estudo detalhado da biologia reprodutiva da *V. curassavica*. Os resultados mostraram que a espécie possui um mecanismo denominado heterostilia, no qual, ocorrem dois morfos florais distintos que impedem que ocorram a autofecundação na planta, ou seja, favorecendo assim a alogamia e o aumento da variabilidade genética na espécie (HOELTGEBAUM et al., 2018)

O horário de abertura das flores ocorre em período diurno entre 7:00 e 11:00h, no entanto, aproximadamente 85% das flores abrem entre as 9:00 e 11:00h, não ocorrendo antese após esse período. Os principais polinizadores da *V. curassavica* são insetos das ordens Hemiptera, Diptera, Hymenoptera e Coleoptera que atuam na transferência de pólen entre as plantas (BRANDÃO et al., 2015).

Os frutos são do tipo drupa, de cor vermelha quando em estágio de maturidade fisiológica e atingem diâmetros de cerca de 10 mm (STAPF e SILVA, 2013). De acordo com Machado et al. (2011) que avaliaram o comportamento fisiológico das sementes da espécie, foi observada a ausência de impedimentos fisiológicos à embebição de água, além disso, as sementes tiveram maiores velocidades de germinação em temperaturas próximas a 25°C com disponibilidade de luz a 3 cm de profundidade de semeadura.

A erva-baleeira é uma das plantas aromáticas com importância econômica no Brasil e pioneira no mundo na produção de medicamento a base de planta nativa. Desde meados dos anos 2000, a espécie é utilizada na produção do fitoterápico Acheflan[®] regulamentado e aprovado pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2004 para tratamento de traumatismos, tendinopatia e dor miofacial (PERINI et al., 2015).

Os estudos com a planta começaram na década de 80, onde associavam o efeito fitoterápico ao composto artemetina. No entanto, com os avanços em metodologias de pesquisa, em 2001, o composto sesquiterpênico α -humuleno presente no óleo essencial foi descoberto como o principal responsável pela ação anti-inflamatória da espécie. Posteriormente, o óleo essencial passou a ser utilizado na produção do Acheflan no Brasil (RAMOS et al., 2005).

2.2 Diversidade química e atividade biológica de *V. curassavica*

2.2.1 Óleo essencial e extratos de *V. curassavica*

O óleo essencial é uma mistura de substâncias lipofílicas, derivadas do metabolismo secundário das plantas, possui características odoríferas e estado líquido, é volátil e solúvel em solventes orgânicos. É biossintetizado por rotas metabólicas específicas, diferindo das rotas de produção de compostos primários como proteínas e carboidratos. Para a ocorrência da síntese de compostos secundários como os constituintes do óleo essencial, é importante que haja uma relação entre as rotas primárias que fornecem precursores para as rotas secundárias produzirem esses produtos (BASER e BUCHBAUER, 2010; TAVARES et al., 2011).

As vias de produção dos compostos secundários são dívidas em três rotas: Chiquimato, Mevalonato e Malonato. Os terpenóides são sintetizados a partir do mevalonato, os quais são formados pela condensação de unidades de isopreno. Esses são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (5 carbonos), em monoterpenos (os mais abundantes) com 10 carbonos, ou seja, duas unidades e os sesquiterpenos (15 carbonos) com três unidades (CORRAZA, 2002; CASTRO et al., 2004).

A *V. curassavica* é uma espécie aromática com grande diversidade fitoquímica. A variabilidade de compostos no óleo essencial foi avaliada por Nizio et al. (2015) que estudaram a diversidade química de 59 plantas nativas coletadas em diferentes municípios de Sergipe. Neste estudo foram detectados 63 compostos químicos que contribuíram com a formação de cinco grupos de acordo com seus respectivos compostos majoritários: Grupo I (turmerona e (E)-cariofileno); Grupo II (tricicleno e canfeno); Grupo III (α -zingibereno e β -sesquifelandreno); Grupo IV *E*-cariofileno e 7-ciclodecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil); Grupo V (7-ciclodecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil). Além disso, os compostos *E*-cariofileno (1,67-31,06%) e α -humuleno (0,00-10,32%) apareceram em 100% e 95%, respectivamente, das plantas avaliadas, enquanto o viridiflorol foi detectado como majoritário em plantas isoladas e seu teor variou de 2,53 a 15,25%.

Alguns autores também estudaram a composição química em plantas da espécie, dentre eles, Carvalho et al. (2017) avaliaram a composição química de planta da região do Cariri no estado da Bahia, e verificaram que os compostos majoritários no óleo essencial foram os sabineno (31,99%), β -cariofileno (13,10%) e biciclogermacreno (11,06%). Esses dados corroboram com os resultados encontrado por Nizio et al. (2015) demonstrando que a planta possui grande plasticidade fenotípica, e pode adaptar-se a diferentes regiões e apresentar interação entre as condições locais e sua genética.

Rodrigues et al. (2012) em estudos com plantas do horto medicinal do Ceará, observaram como constituintes principais o β -cariofileno (25,4%), o biciclogermacreno (11,3%), o α -pineno (9,5%) e o δ -cadineno (9,4%). Apesar da presença desses em maiores proporções no óleo essencial, compostos como o cadina-1,4-dieno (5,9%) e o espatulenol (5,7%) demonstraram importância na composição química.

Capaz (2017) em estudo da influência do rebrotamento na composição química da erva-baleeira cultivada no Piauí e São Paulo observou que o cultivo da planta em regiões quentes e com baixas precipitações favoreceu o aumento significativo dos teores dos compostos α -pineno (quente= 54,2% e frio=33,2%), β -elemeno (quente= 1,90% e frio=0,30%), δ -elemeno (quente= 2,5% e frio= 0,80%), no entanto, os compostos *E*-cariofileno (quente= 14,0% e frio=26,5%),

dehidro-aromadendreno (quente= 2,80% e frio=7,20%) e γ -gurjuneno (quente= 1,30% e frio=3,50%) apresentaram aumento com a redução de temperatura.

Oliveira e Camara (2007) realizaram estudo de diversidade química com espécies do gênero *Cordia* (*Cordia globosa* e *C. curassavica*) oriundos do sertão do estado de Pernambuco, com o objetivo de verificar a ocorrência de compostos químicos semelhantes entre as espécies do mesmo gênero. A análise química revelou a distinção existente entre as espécies. Os principais componentes do óleo essencial de *C. globosa* foram: 1-endo-bourbonanol (20,2% no caule) e butirato de linalila (14,7% no caule); enquanto os principais constituintes dos óleos de *C. curassavica* foram o espatulenol (27,1% no caule), hidrato de trans-sesquisabineno (11,0% no caule), viridiflorol (10,7% no caule), β -felandreno (25,3% nas folhas), cubebol (23,9% nas folhas) e α -pineno (10,4 % em folhas).

Oliveira et al. (2020) avaliaram os teores e a composição química do óleo essencial de genótipos da coleção de *V. curassavica* do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal de Sergipe, e verificaram a existência de sete grupos químicos: Grupo I (VCUR-103, VCUR-402, e VCUR-601) caracterizou-se pela presença do composto 5-methyl-9-methylene-2-isopropylcyclodec-4-en-1-one (26,71-50,07%); Grupo II (VCUR-401, VCUR-404, VCUR-801, e VCUR-302) com ar-turmerona (16,47-19,03%), *E*-cariofileno (4,67-12,56%), helifolen12-ol-D (6,53-9,30%) e β -turmerona (6,14-9,37%); Grupo III (VCUR-005, VCUR-004 e VCUR-003) com presença de 5-methyl-9-methylene-2-isopropylcyclodec-4-en-1-one (16,61-18,10%), *E*-cariofileno (4,42-10,14%) e α -turmerona (6,56-8,44%); Grupo IV (VCUR-701 e VCUR-202) com shyobunol (10,52-24,18%) e germacreno D-4-ol (8,17-29,42%); Grupo V (VCUR-002, VCUR-505, VCUR-504, VCUR-502, e VCUR-301) com viridiflorol (52,47%); Grupo VI (VCUR-101, VCUR-501, VCUR-102, e VCUR-201) com *E*-cariofileno (4,50-20,55%), sabineno (0,35-26,96%) e biciclogermacreno (0-12,38%); e Grupo VII (VCUR-105, VCUR-104, VCUR-503, VCUR-403, VCUR-303, e VCUR-001) com os constituintes α -pineno (24,74-47,55%) e *E*-cariofileno (0,87-14,61%). Os teores de óleo essencial variaram de 0,85 a 3,20% na época chuvosa e de 1,08 a 2,84% na época seca.

Os extratos vegetais diferentemente dos óleos essenciais possuem uma variabilidade de classe de compostos maiores. Essas substâncias podem ser classificadas em diferentes categorias: fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, taninos, terpenos, alcalóides, lectinas e polipeptídeos. Esses compostos podem ser extraídos de diversas formas, desde o processo de cocção (com aquecimento do material vegetal em água) ou com a mistura das folhas em soluções para remoção destes (BONATO et al., 2008).

A composição química de extratos obtidos de *V. curassavica* é bastante complexa quando comparado ao óleo essencial. Segundo estudo realizado por Michielin et al. (2009) diversos extratos obtidos da espécie apresentam cerca de 82 constituintes químicos, de diversas classes químicas (dentre eles, monoterpenos hidrocarbonicos, sesquiterpenos oxigenados, triterpenos, álcool e flavonóides), extraídos a partir de diferentes métodos em solventes orgânicos como o n-hexano, acetato de etila, etanol, acetona e diclorometano. Os principais compostos foram: o aromadendrene (11,84%) com uso do solvente acetato de etila, L-alloaromadendreno (13,31%) com uso de etanol, β -cariofileno (5,84%) em etanol e espatulenol (3,54%) em acetato de etila. Dentre os tipos de extratos vegetais encontrados na literatura, os aquosos vêm se destacando por apresentarem baixo nível de impureza quando comparados aos extratos obtidos por adição de solventes orgânicos como os acetônicos, clorofórmicos, etanólicos e metanólicos. De acordo com Aguiar et al. (2008) esses extratos podem ser obtidos através da maceração das folhas e posterior aquecimento a uma temperatura entre 28 a 30°C e separação do material vegetal e extrato através de filtração.

O processo de hidrodestilação de óleo essencial gera um co-produto que se assemelha ao extrato aquoso obtidos em diversos trabalhos científicos. O procedimento é feito aquecendo folhas secas imersas em água em balões de hidrodestilação por cerca de 120 min (Nizio et al., 2018a). Na indústria, o principal processo empregado na obtenção do óleo essencial é o método por arraste a vapor. Nesse método, o óleo essencial é extraído da planta através de vapor gerado

pelo aquecimento da água, que arrasta o óleo essencial até o condensador (OLIVEIRA, 2015). A principal diferença desse método para a hidrodestilação é que as folhas não estão em contato com a água e, posteriormente, são descartadas ou utilizadas para produção de compostagem ou adubação de cobertura. Entretanto, essas folhas podem ser utilizadas em processo de decocção para geração de extrato aquoso, assim como na hidrodestilação.

2.2.2 Atividades biológicas de *V. curassavica*

A *V. curassavica* é uma espécie que apresenta inúmeras atividades biológicas relatadas na literatura, dentre elas, a antiprotozoária (NIZIO et al., 2018b; SILVA et al., 2019), antifúngica (NIZIO et al., 2020), antibacteriana (MICHIELIN et al., 2009; DA SILVA et al., 2020) e inseticida (OLIVEIRA et al., 2019).

Uma pesquisa realizada com a *V. curassavica* em 2015 na Universidade Federal de Sergipe, verificou a eficiência do composto viridiflorol associado ao (E)-cariofileno e do óleo essencial rico em germacreno-D-4-ol, que foram responsáveis pela mortalidade de 100% dos trofontes e tomontes, provocando danos à membrana do trofonte e o rompimento da parede do cisto nos tomontes promovendo a morte desses em concentrações de 75 mg.L⁻¹ do óleo essencial (NIZIO et al., 2018b).

Silva et al. (2019) avaliando a atividade antiprotozoária de óleos essenciais de acessos da coleção de *V. curassavica* da UFS (VCUR-002, VCUR-104, VCUR-202, VCUR-302, VCUR-303, VCUR-601 e VCUR-701), sobre *Phytomonas serpens*, observaram que o acesso VCUR-202 (IC₅₀ = 13,94 µL.mL⁻¹) apresentou uma toxicidade superior aos demais acessos testados. Esse genótipo apresenta como principais constituintes químicos o germacreno D-4-ol (32,16%), epizonareno (16,67%) e *E*-cariofileno (6,16%).

Em outro trabalho realizado para avaliar a atividade de acessos de *V. curassavica* mantidos na UFS: VCUR-002 (α -pineno - 56,69%), VCUR-202 (germacreno D-4-ol - 32,16%, epizonareno - 16,67% e *E*-cariofileno - 6,16%); VCUR-302 (β -sesquifelandreno - 18,53% e *E*-cariofileno - 6,16%); VCUR-601 (sabineno - 18,26% e *E*-cariofileno - 21,78%) e VCUR-701 (ar-turmerona - 18,26%), sobre a bactéria gram-negativa *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, os autores verificaram que os óleos essenciais apresentaram concentração inibitória mínima entre 500-100 µL.mL⁻¹. Além disso, 70% do total de combinações entre os óleos essenciais mostraram efeito aditivo, sendo as combinações entre o VCUR-302+VCUR-202 e VCUR-302+VCUR-601 sinérgicas (DA SILVA et al., 2020).

Nizio et al. (2015), avaliaram a atividade antifúngica de óleos essenciais obtidos de plantas nativas que formaram cinco grupos químicos (Grupo I= *E*-cariofileno e turmerona; Grupo II= tricicleno, canfeno e *E*-cariofileno; Grupo III= (E)-cariofileno, α -zingibereno e β -sesquifelandreno; Grupo IV= *E*-cariofileno e 7-cyclodecen-1-ona,7-methyl-3-methylene-10-(1-propyl); Grupo V= 7-cyclodecen-1-ona,7-methyl-3-methylene-10-(1-propyl)) sobre o fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae*. Os autores constataram que os genótipos dos grupos II, IV e V inibiram aproximadamente 75% do crescimento micelial após 96h de incubação.

Outro estudo comparou a atividade inibitória do óleo essencial de *V. curassavica* obtido por hidrodestilação (HD) e micro-ondas (MI) sobre o fitopatógeno *Colletotrichum musae*. Até 72 horas após o início da incubação, não foi observado nenhum crescimento micelial do fungo, mesmo nas concentrações mais baixas de óleo essencial, enquanto, para o controle foi observado crescimento a partir de 24 horas. Após 144 horas, independentemente da concentração, as amostras de óleo essencial obtidas por HD proporcionaram menor crescimento micelial do *C. musae* (1,49 cm) quando comparadas às amostras obtidas por MI (1,80 cm) (NIZIO et al., 2020).

Atividades biológicas também foram associadas aos extratos dessa espécie aromática. Michielin et al. (2009) avaliou a atividade antibacteriana de extratos de plantas de *V. curassavica* nativas da região de Barra de Ibiraquera em Santa Catarina, e verificou que extratos ricos em aromadendrene e L-alloaromadendreno apresentaram efeito inibitório significativo do

crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas como *S. aureus* e *E. coli*, sendo que os resultados podem estar relacionados ao sinergismo entre os compostos presentes no óleo essencial da planta.

2.3 Sazonalidade na produção de óleo essencial

A constituição química dos óleos essenciais de plantas biotivas sofre influência de diversos fatores bióticos e abióticos, dentre esses, os ambientais como temperatura, precipitação e sazonalidade (ENGEL et al., 2014; PAULUS et al., 2016). Esses fatores são responsáveis por expressões genéticas associadas à sobrevivência, resistência e adaptação de populações fenotipicamente distintas (RAMOS et al., 2011).

A temperatura é um dos fatores de regulação metabólica e bioquímica de maior relevância nas plantas (TAIZ e ZEIGER, 2013). Já em relação à precipitação de chuva, um estresse hídrico pode resultar em maiores teores de óleo essencial na planta, como também, nos teores de (E)-cariofileno como observado na espécie *Plectranthus amboinicus* (CARNEIRO et al., 2010).

Essa interação genótipo x ambiente influencia na ativação de genes e, também, na expressão dos genes envolvidos na formação de enzimas, que irão atuar na biossíntese dos compostos químicos (BASER, 2010).

Diversas enzimas atuam na rota do MEP e DMAPP durante a biossíntese de compostos químicos no óleo essencial. Infelizmente, nem todas essas enzimas e genes foram descritos em espécies como a *V. curassavica*, mas sua participação em processos metabólicos e bioquímicos tem grande efeito na variabilidade existente na espécie.

A precipitação e temperatura tem papel determinante na escolha da época de colheita das plantas visando a extração do óleo essencial (BOTREL et al., 2010). Em estudo com acessos de *V. curassavica*, conservados no BAG da UFS, Oliveira et al. (2020) verificaram que as diferenças de precipitação e temperatura ambiental na época de colheita influenciaram a composição química e os teores de óleo essencial em genótipos dessa espécie. Para o acesso VCUR-503 não foram observadas diferenças significativas entre os teores de óleo essencial na época seca (1,73%) e chuvosa (1,23%), no entanto, os genótipos VCUR-001 (0,99-1,70%), VCUR-003 (2,20-2,78%), VCUR-004 (1,30-2,00%), VCUR-104 (1,78-2,19%) e VCUR-301 (1,63-2,05%) apresentaram maiores produções de óleo essencial na época seca. Em relação aos compostos, o (E)-cariofileno (chuvoso= 13,29% e seco=5,92%) e o α -humuleno (chuvoso= 3,44% e seco=1,74%) sofreram reduções na produção sob condições de baixa precipitação e altas temperaturas. Para o viridiflorol (chuvoso= 32,84% e seco=52,47%) a época seca proporcionou aumento significativo no teor desse composto.

Em estudo conduzido por Marques et al. (2019) foram avaliados três acessos de *V. curassavica* de diferentes origens geográficas (Bahia, São Paulo e Rio de Janeiro) e estações do ano. Entre os acessos avaliados, o do Rio de Janeiro (RJ) apresentou o maior teor de α -humuleno, com maior produção durante a primavera (2,89%), enquanto o SP apresentou o maior teor de (E)-cariofileno (16,12%) em todas as épocas avaliadas.

Fernandes et al. (2021) realizaram colheitas durante 12 meses, em Minas Gerais, e correlacionaram os meses de colheita com a produção de óleo essencial e sua composição química. O teor médio anual de α -humuleno foi superior a 2,00%. Os autores concluíram que a sazonalidade influencia nos teores e composição química de *V. curassavica*. Além desses, outros estudos já comprovaram que espécies como *Pogostemon cablin* (BLANK et al., 2011), *Lippia alba* (BARROS et al., 2009), *Cymbopogon winterianus* (BLANK et al., 2007) produzem mais óleo essencial no período seco. Entretanto, para o *Ocimum basilicum* foi constatado maior produção de óleo essencial na época chuvosa (PINTO et al., 2019).

2.4 *Ichthyophthirius multifiliis*

A demanda por pescados tem crescido significativamente nas últimas décadas. Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura (FAO) entre os anos de 1961 e 2018 o abastecimento de peixe teve crescimento anual de 3,2% ao ano em todo o mundo, sendo o dobro da taxa de crescimento demográfico. Essa maior oferta fez com que o consumo *per capita* mundial passasse de 9,9 kg em 1960 para aproximadamente 21,0 kg em 2016 (FAO, 2018).

O principal motivo do aumento da oferta foi à ampliação dos investimentos em tecnologias de captura de peixe em alto mar e na criação em viveiros. De acordo com dados da FAO (2018) a produção de peixes em viveiros era de 55,7 milhões de toneladas em 2009 e teve crescimento expressivo no ano de 2014 com 73,8, um aumento de 18,1 milhões de toneladas em cinco anos. O maior produtor pesqueiro é a China, seguido de Estados Unidos da América, Rússia, Índia, Vietnã e Egito.

O Brasil é um dos principais produtores na América Latina com uma produção anual estimada em 599 mil toneladas, em 2019, sendo a região Sul (189 mil toneladas) líder em produção aquícola, seguida pelo Nordeste (150 mil toneladas) (XIMENES, 2021). Entretanto, a produção brasileira é baixa a nível mundial ocupando apenas a 19ª posição no ranking de maiores produtores, além disso, não é suficiente para atender as exigências do consumidor interno e necessita importar parte da produção de outros países para atender a demanda da população (FAO, 2018). Essa baixa produção reflete diretamente no consumo. O consumo brasileiro de pescado chega a 11,1 kg sendo inferior à média mundial recomendada pela OMS (BRABO et al., 2016; FAO, 2018).

A baixa produtividade encontrada no Brasil e em diversos países tropicais está relacionado diretamente ao surgimento de doenças no ambiente de cultivo. A precária situação sanitária aumenta a ocorrência de microrganismos parasitas e reduzem o tempo para amenizar as perdas, quando comparados às regiões temperadas. Países como a Austrália, Brasil, Chile e Venezuela já relataram ocorrência de protozoários como *Anacanthorus spatulatus*, *Epistylis* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Linguadactyloides brinkmanni* e *Trichodina* sp causadores de infecções em peixes de água doce (DIAS et al., 2015).

Em relação a esses protozoários, a espécie *I. multifiliis* destaca-se entre os principais parasitas causadores de doenças em peixes cultivados no Brasil e mundo. Um estudo realizado na espécie de peixe *Rutilus rutilus* por pesquisadores da Universidade de Oslo na Noruega em 1994, verificou que a infecção por *I. multifiliis* em peixes infectados de forma natural e artificial apresentam uma alta mortalidade e rápida taxa de infecção, além disso observaram que altas temperaturas proporcionam ambiente favorável para surtos desse parasita (BRABRAND et al., 1994).

Carvalho e Tavares-Dias (2017) através dos resultados obtidos em uma pesquisa, realizada na região Amazônica, analisaram o comportamento desse protozoário frente às variações biológicas e climáticas do rio Amazonas. Verificaram através de coleta de peixes nas diferentes estações a ocorrência desse parasita em duas delas. Os dados mostraram a grande resistência que o *I. multifiliis* possui em meio às intempéries.

O *I. multifiliis* é um protozoário ciliado (Figura 3a), unicelular medindo cerca de 200 a 1000 µm, sendo um organismo histófago, ou seja, que se alimenta de células epiteliais e de glóbulos vermelhos no peixe. Possui formato ovalado tendo um macronúcleo em forma de ferradura em seu interior. A espécie foi inicialmente descrita e classificada por Fouquet em 1876, mas já existiam relatos da ocorrência de sintomas semelhantes aos provocados por esse parasita durante o século X em cultivos na China (KLEIN et al., 2004; VARGAS et al., 2008).

Esse parasita é responsável pela doença Ictioftiríase popularmente conhecida como “doença dos pontos brancos”, que recebe esse nome por que provoca o aparecimento de pontos esbranquiçados na escama do peixe e nas brânquias (Figura 3b). Seu ciclo de vida é dividido em quatro estágios: trofonte, tomonte, tomito e teronte. A forma livre do *I. multifiliis* conhecido

por teronte penetra na pele do peixe através das escamas ou brânquias, posteriormente transforma-se em trofote e começa a se alimentar do tecido epitelial e do sangue do peixe até atingir sua forma madura chamada de tomonte, que é liberado para o meio. Esse tomonte cria um cisto de proteção contra variações climáticas e químicas da água e começa um processo mitótico de divisão celular, que pode gerar entre 500 a 1000 novas células chamadas de tomitos. Os tomitos perfuram a parede do cisto e transformam-se em novos terontes infectantes e saem em busca de novos hospedeiros (TANCREDO, 2015; BRADO et al., 2016).

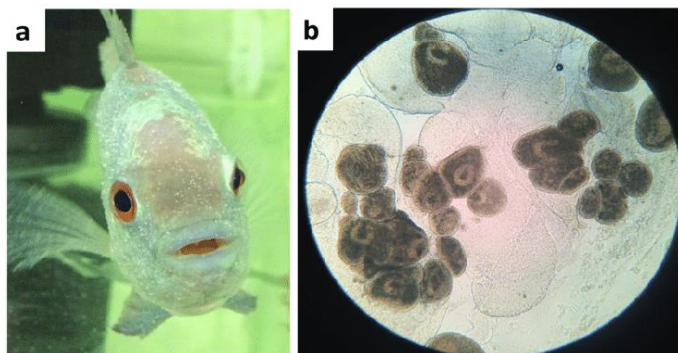


Figura 3. Peixe infectado (A) e *Ichthyophthirius multifiliis* visto em microscópio (B)
(Fonte: CARDOSO et al., 2018)

A infecção pelo *I. multifiliis* reduz a osmorregulação nos peixes, sendo esse processo importante na regulação da concentração salina na pele do peixe e evita que esse indivíduo absorva ou perca água em excesso. Além disso, a perfuração na pele abre porta de entrada para diversas bactérias gram-negativas que produzem toxinas dentro do peixe mesmo após o processo de pesca (JORGENSEN, 2017).

Carvalho et al. (2016) isolou microrganismos em ferimentos provocados por *I. multifiliis* em Jundiá (*Rhamdia quelen*) nativo e muito utilizado na piscicultura nacional. Foram encontradas 4 espécies de bactérias: *Escherichia coli*, *Burkholderia pseudomallei*, *Morganella* sp., *Aeromonas hydrophila*. Além disso, testou alguns antibióticos e constatou que mais de 50% desses microrganismos apresentam resistência ao tratamento após a infecção no peixe. Essas bactérias podem comprometer os índices zootécnicos dos animais de produção e causar prejuízos econômicos e sociais na piscicultura.

Atualmente pesquisas vêm sendo desenvolvidas na tentativa de combater esse protozoário nos peixes, dentre elas, o desenvolvimento de vacinas tem ganhado destaque no meio científico e tornado-se uma promessa como forma de imunização dos peixes. Xu et al. (2017) apresentaram um estudo avaliando a expressão de genes na imunização de peixes em resposta a vacina anti-Ich (anti-*I. multifiliis*) e verificaram que esse método possui eficiência na expressão de genes (TLR-1 e TLR-9) que irão proporcionar resistência ao ataque *I. multifiliis* ao tecido epidérmico. Apesar do efeito positivo, essa técnica apresenta falhas técnicas que impossibilitam o controle de populações já infectadas e principalmente a inviabilidade em produções de grande escala, pois a imunização é feita individualmente no peixe, sendo viável apenas para imunização na piscicultura ornamental. Segundo Jorgensen (2017) ainda não existe vacina produzida em escala industrial no mundo e a vacina apresenta problemas na imunização contra raças mais agressivas do *I. multifiliis*.

Além desse controle existem métodos empregados no controle desse parasita como o uso de formalina (0,2 mL.L⁻¹), permanganato de potássio (1,3 mg.L⁻¹), sulfato de cobre (0,63 mg.L⁻¹), sal comum (10g g.L⁻¹), verde de malaquita (0,05 mg.L⁻¹) e elevação de temperatura para 32°C (CARNEIRO et al., 2005). Segundo esses autores, que avaliaram esses métodos sobre *I. multifiliis* em alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen*) estocados em aquários de 20 L por 192 horas, o sulfato de cobre e a elevação de temperatura reduziram o número de parasitas ao final do experimento. Apesar desse trabalho comprovar eficiência na redução dos parasitas, devido ao rápido desenvolvimento e dissiminação, a existência de parasitas sobreviventes pode

proporcionar a proliferação futura no ambiente de cultivo. O controle desse patógeno é um problema em peixes ornamentais e produção comercial, pois não existe tratamento eficaz até o momento.

Os metabólitos vegetais podem apresentar eficiência no controle de microrganismos, pois a variabilidade de compostos existentes promove o efeito sinérgico entre os compostos, o que potencializa a ação biológica. Além disso, os óleos essenciais por exemplo, são fotodegradáveis e não se acumulam no meio ambiente. Além da *V. curassavica*, outros estudos comprovam a ação de metabólitos vegetais de outras espécies contra o *I. multifiliis*.

2.5 Melhoramento genético de plantas aromáticas

2.5.1 Seleção recorrente em plantas bioativas

Um dos métodos de melhoramento mais utilizados em espécies alógamas é a seleção recorrente. Essa é uma das técnicas mais antigas, e foi desenvolvida inicialmente por F. H. Hull em 1945, para melhoria de espécies de polinização aberta como o milho. Esse método visa aumentar a frequência de alelos desejáveis para incorporação de características quantitativas em uma população com alta frequência de alogamia (BORÉM & MIRANDA, 2013). A alogamia é um fenômeno no qual a espécie vegetal apresenta em sua reprodução, uma maior taxa de fecundação cruzada em relação a autofecundação. Diversos mecanismos são responsáveis por evitar a endogamia na planta, dentre eles, a autoincompatibilidade é um fator determinante na classificação dessas espécies como alógamas (MENDES et al., 2013). A autoincompatibilidade é um mecanismo que impede que as plantas consigam se autofecundar, com isso, mantem o fluxo gênico da população e o equilíbrio de sua variabilidade. Em plantas alógamas, a troca de pólen entre indivíduos contrastantes geneticamente proporciona a expressão de fenótipos superiores em relação aos parentais (HOELTGEBAUM et al., 2018).

Uma população alógama em que não há interferência externa, sem inserção de indivíduos, seleção ou retirada de genótipos, a princípio, está em equilíbrio de Hardy-Weinberg onde as frequências alélicas e genotípicas não são alteradas de uma geração para outra (SYBENGA, 1992). Porém, quando se faz seleção, ou seja, quando se mantem apenas indivíduos superiores, para a característica alvo, induz o aumento da frequência de alelos de interesse e a quebra do equilíbrio da população (ACQUAAH, 2012).

As progênies obtidas de uma única planta após cruzamentos ao acaso, são denominadas de progênies de “meios-irmãos”, pois apenas a característica genética da planta-mãe é conhecida no momento da coleta das sementes. O ganho genético para característica quantitativas como teor de óleo essencial e constituintes químicos é alto quando empregado métodos de seleção recorrente entre meios-irmãos, pois a variabilidade genética existente favorece uma melhor seleção das progênies elites nos ciclos de seleção (BOTTIGNON et al., 2011; MONTANARI JUNIOR, 2011). A variabilidade genética existente em uma população diz respeito à diversidade de alelos dominantes e recessivos em diferentes locos gênicos, que em interação com o ambiente de cultivo, podem proporcionar a síntese de enzimas responsáveis pelo aumento da variabilidade química de compostos presentes no óleo essencial de plantas bioativas (PINTO, 2017; GARCIA-FAYOS et al., 2018).

Uma das variações do método de seleção recorrente em plantas alógamas é a denominada “Seleção Fenotípica”, no qual as progênies de meios-irmãos são avaliadas de forma individual e as médias para as características de interesse, comparadas com o parental materno ou receptor do grão de pólen. Esse método de melhoramento é dividido em basicamente três etapas: recombinação, avaliação e seleção das progênies superiores, sendo repetidos até que se alcance um nível satisfatório de frequência alélica (BORÉM & MIRANDA, 2013). No programa de melhoramento de *V. curassavica* desenvolvido pela Universidade Federal de Sergipe (UFS), a seleção fenotípica está sendo empregada a partir do

intercruzamento de acessos mantidos no banco de ativo de germoplasma da espécie, onde foram coletadas sementes (progênies de meios-irmãos) do acesso parental feminino (VCUR-503).

Esse método já foi aplicado em programas de melhoramento de espécies bioativas como a *V. curassavica* e *Lippia alba*. Dentre as instituições e programas pioneiros no melhoramento da erva-baleeira, destaca-se o que foi conduzido com a finalidade de produzir cultivares com alto teor de α -humuleno para produção do medicamento fitoterápico Acheflan, pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Neste foi aplicado o método de seleção recorrente entre meios-irmãos, sendo observado alto ganho genético para as características de adaptabilidade dessa espécie às condições de cultivo (MONTANARI JUNIOR, 2011).

O Instituto Agrônomo de Campinas através de programas de melhoramento de *L. alba*, vem utilizando a seleção recorrente para obtenção de indivíduos meios-irmãos com alto potencial de produção de óleo essencial. Dentre os trabalhos, Rufino (2008) avaliou 63 progênies de meio irmãos de *L. alba*, e observou alto potencial para o clone 288 proveniente da geração S1 que apresentou teor de linalol de 83,3%.

Bottignon et al. (2011) utilizando uma população recombinante de 20 plantas da espécie *L. alba* de cinco quimiotipos diferentes, obteve 30 progênies de meios-irmãos do quimiotipo linalol. Foi realizada caracterização agrônômica com avaliação de massa seca de folhas, rendimento do óleo essencial e produção de óleo essencial por planta. Com isso, concluíram que as progênies IAC 1, IAC 2, IAC 4 e IAC 8 possuem médias superiores para as características avaliadas e potencial para posteriores recombinações.

Apesar do objetivo do melhoramento serem voltados para obtenção de cultivares com alto teor de compostos de interesse, uma pesquisa desenvolvida na Universidade Federal de Sergipe por Pinto (2017) aplicando o método de seleção recorrente em genótipos de *L. alba*, com objetivo de obter indivíduos com alto teor de carvona, verificou que embora não tenha sido obtido progênies com maiores teores de carvona em comparação com os acessos parentais, outros compostos foram observados em menores proporções, que contribuíram para maior toxicidade contra *A. balzani*. Esse resultado mostrou que a aplicação do método de seleção recorrente pode auxiliar na produção de compostos minoritários potencializando a atividade biológica do óleo essencial dos genótipos obtidos.

O programa de melhoramento de *V. curassavica* da Universidade Federal de Sergipe (UFS) tem como principal objetivo desenvolver cultivares com altos teores de (E)-cariofileno e viridiflorol, visando o controle do protozoário *Ichthyophthirius multifiliis* em peixes de água doce. A espécie vegetal já possui aplicação industrial na área farmacológica, no entanto, o desenvolvimento de cultivares com alto potencial agrônômico e antiprotozoário, torna a espécie uma possível fonte de renda para cooperativas em todo o país, no desenvolvimento de produtos para o controle dessa doença. Além disso, esse trabalho também tem como foco direcionar o aproveitamento de resíduos do processo de extração de óleo essencial para controle desse parasita (Figura 4).

2.5.2 Biossíntese do E-cariofileno e viridiflorol

O viridiflorol é um álcool sesquiterpênico, encontrado em espécies de importância agrícola e medicinal. De acordo com o banco de dados EssOilDB (2019) esse composto é biossintetizado em diversas espécies de interesse medicinal e agrícola como a *Pinpinella aurea* (32,00%), *Cassinia quinquefaria* (20,00%), *Achillea coarctata* (11,80%), *Cistus ladanifer* (17,40%), *Salvia hypoleuca* (14,90%), *Salvia officinalis* (18,60%), *Melaleuca quinquenervia* (45,00%) e *Varronia curassavica* (19,42%). Além disso, os teores desse composto apresentam uma variação de 0,04% a 45,00%, o que está amplamente relacionado às rotas metabólicas de biossíntese do viridiflorol nas diversas espécies.

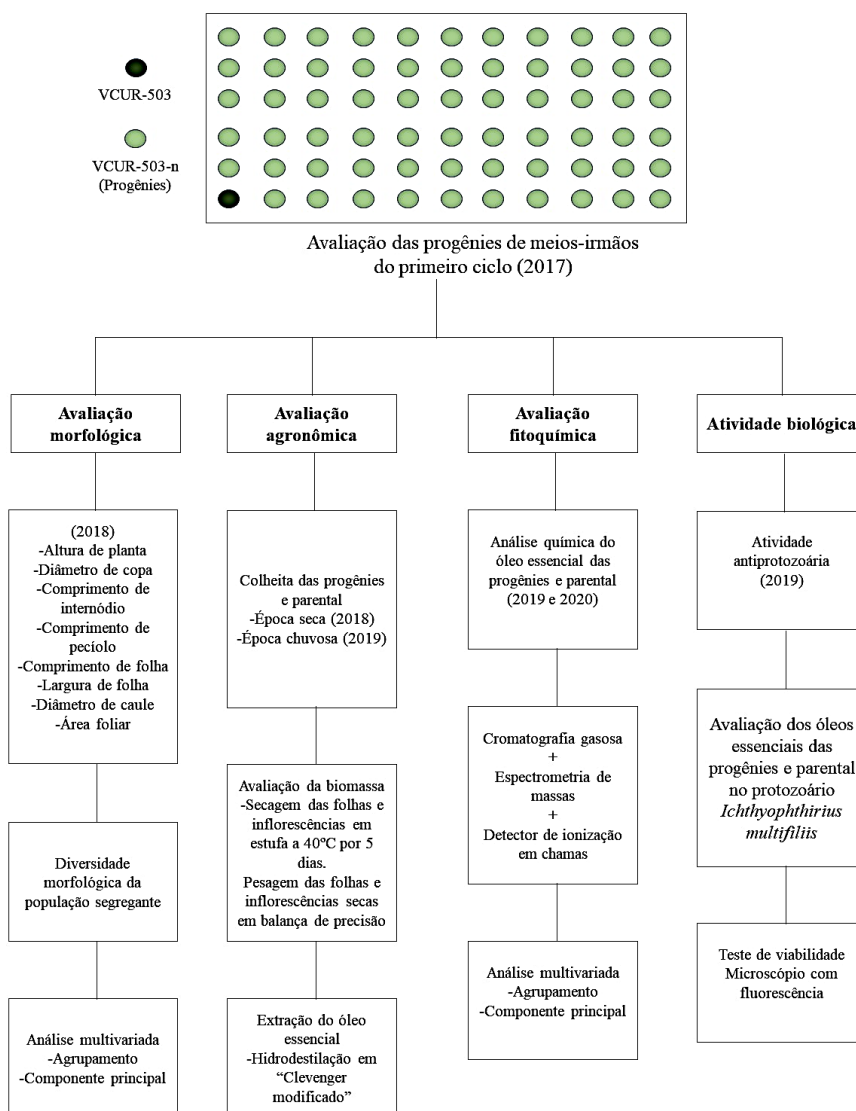


Figura 4. Esquema de avaliação dos meios-irmãos e parental do programa de melhoramento de *V. curassavica* da UFS.

Esse composto é um terpeno de baixo peso molecular (15 carbonos), cíclico, possuindo uma hidroxila (-OH) ligado à estrutura carbônica (Figura 5). Suas rotas de biossíntese são a via do ácido mevalônico e a via do metileritritol fosfato (MEP), que possui ampla dependência de moléculas oriundas do metabolismo primário vegetal como a fotossíntese, ciclo de Calvin, glicólise e descarboxilação oxidativa (TAIZ e ZEIGER, 2013).

O piruvato gerado na via glicolítica é então enviado para a mitocôndria, onde será descarboxilado pela ação do complexo enzimático "piruvato desidrogenase". A oxidação resultante dará origem ao Acetil-Coenzima A (Acetil-CoA), que terá um papel importante na formação das moléculas isoprênicas através da rota do ácido mevalônico (DEWICK, 2009).

Após a formação dos produtos no metabolismo primário, esses podem seguir por duas rotas, como já mencionado anteriormente: a via do ácido mevalônico (citoplasma) e a via do metileritritol fosfato (MEP, sigla em inglês) (cloroplasto). Para a via do ácido mevalônico, três moléculas de Acetil-CoA são utilizadas para gerar as moléculas de isoprenos. Inicialmente, duas moléculas de Acetil-CoA são combinadas através de condensação de Claisen. Nessa reação, ocorrerá a liberação de uma das coenzimas A e um íon H^+ ligadas a estrutura carbônica do Acetil-CoA, e em seguida, através de ligação simples, forma-se uma ligação dicetona

originando o acetoacetyl-CoA (4C), a enzima responsável por intermediar é a tiolase (DEWICK, 2009).

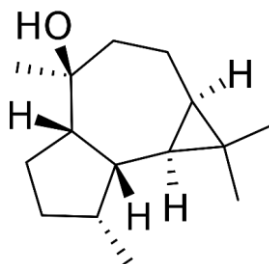


Figura 5. Molécula de viridiflorol.

O acetoacetyl-CoA (4C) reage com um complexo enzimático (Acetil-CoA + HMG-CoA Sintase = ligação tio éster) sobre uma reação aldólica (aldeído + cetona), no qual, a ligação enzimática sofre hidrólise liberando a enzima e formando uma molécula complexa o β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) (6C) (DEWICK, 2009).

O HMG-CoA, com intermédio da enzima HMG-CoA redutase, promove uma reação com consumo de uma molécula de NADPH, sendo reduzido a ligação tio éster, com quebra da dupla ligação entre o oxigênio e a cadeia carbônica e formação de um grupo hidroxila (-OH). O ácido mevaldico (6C) é reduzido por uma molécula de NADPH, com quebra da dupla ligação e formação do ácido mevalônico (6C). Essa molécula é fosforilada por 3 ATPs e ocorre a descarboxilação e eliminação do grupo álcool da cadeia carbônica. A descarboxilação gera um composto de 5 carbonos o isopentenil difosfato (IPP), que por isomerização gera o dimetillalil difosfato (DMAPP) (DEWICK, 2009).

Já na via do metileritritol fosfato (MEP), uma molécula de piruvato reage com o gliceraldeído-3-fosfato formando uma molécula 5 carbonos o 1-deoxy-D-xylulose-5-fosfato. Essa molécula sofre redução por um NADPH e posterior rearranjo, formando o 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato.

O 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato reage com a trifosfato de citidina (CTP) formando uma molécula complexa que sofre fosforilação pelo ATP e posteriores reduções com consumo de NADPH para formação do dimetillalil difosfato (DMAPP), que por isomerização origina o isopentenil difosfato (IPP). O DMAPP (5C) e IPP (5C) são combinadas por intermédio da enzima prenil transferase gerando uma molécula base dos monoterpenos, o geranyl difosfato (GPP). Esse sofre adição de uma molécula de IPP e origina a molécula precursora dos sesquiterpenos, o farnesyl difosfato (FPP) (Figura 6) (DEWICK, 2002).

O FPP passa por ciclização, e origina uma molécula base da biossíntese do viridiflorol e outros compostos intermediários, o germacril cátion (KUMAR et al., 2016) (Figura 4). De acordo com Tran e Cramer (2014) o biciclogermacreno é usado sinteticamente para obtenção do composto (+)-ledeno também conhecido como viridiflorene. Sua obtenção é alcançada por diversas alterações moleculares, que geram intermediários por processo de rearranjo e ciclização. Além disso, uma investigação da rota metabólica do viridiflorol realizada com o óleo essencial de *Melaleuca quinquenervia*, evidenciaram que entre esses compostos intermediários, o alloaromadendreno é uma molécula chave na obtenção de uma série de compostos químicos como o viridiflorol e o ledol (BOMBARDA et al., 2001; SILVA et al., 2010).

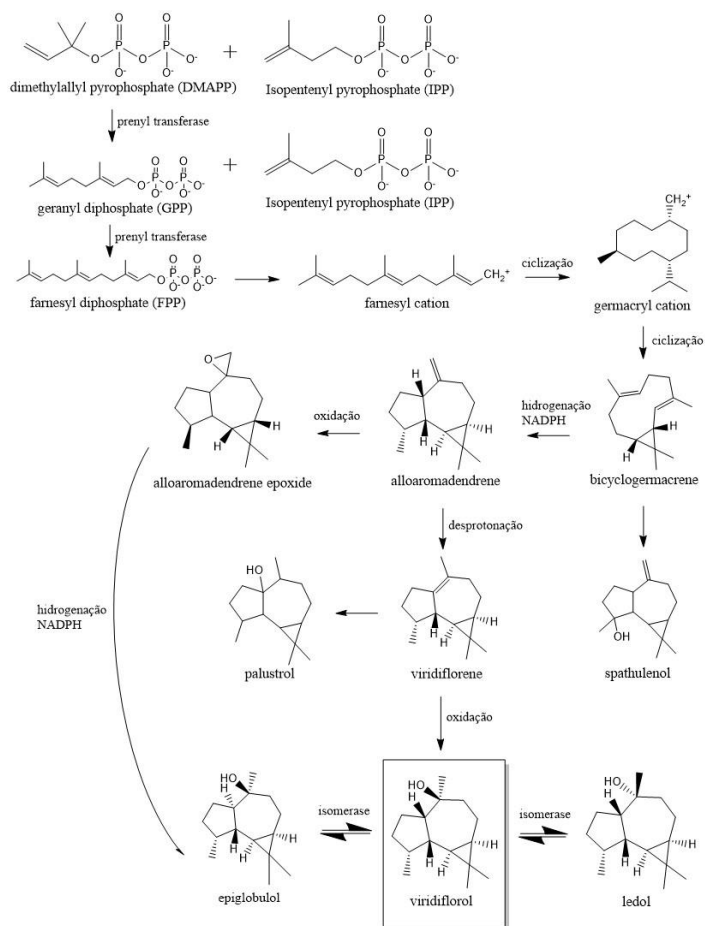


Figura 6. Biossíntese de viridiflorol.

O viridifloreno passa por um processo de oxidação e hidrogenação, com adição de uma hidroxila na cadeia carbônica, originando o viridiflorol (PUBCHEM, 2019).

A biossíntese do *E*-cariofileno é iniciada com a formação do geranyl difosfato (GPP) sobe condensação do isopentenil difosfato (IPP) e dimetillalil difosfato (DMAPP). A enzima responsável é a prenil transferase, que também atuará na adição de uma molécula de IPP em GPP para formação do farnesil difosfato (FPP) (SILVA et al., 2010 BARROS et al., 2009) (Figura 7).

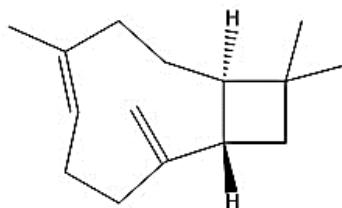


Figura 7. Molécula de *E*-cariofileno.

A molécula de FPP passa por um rearranjo com mudança de posição do grupo difosfato e forma o cariofilil cátion. O cariofilil cátion passa por diversas reações enzimáticas e provoca a cicização, rearranjo e eliminações dando origem ao Humulil cátion. O humulil cátion passa por rearranjo com deslocamento de prótons gerando o α -humuleno (SILVA et al., 2010).

O humulil cátions por cicização e rearranjo gera um composto instável o cariofilil cátion, esse então é desprotonizado formando o *E*-cariofileno, uma molécula estável quimicamente (DEWICK, 2002) (Figura 8).

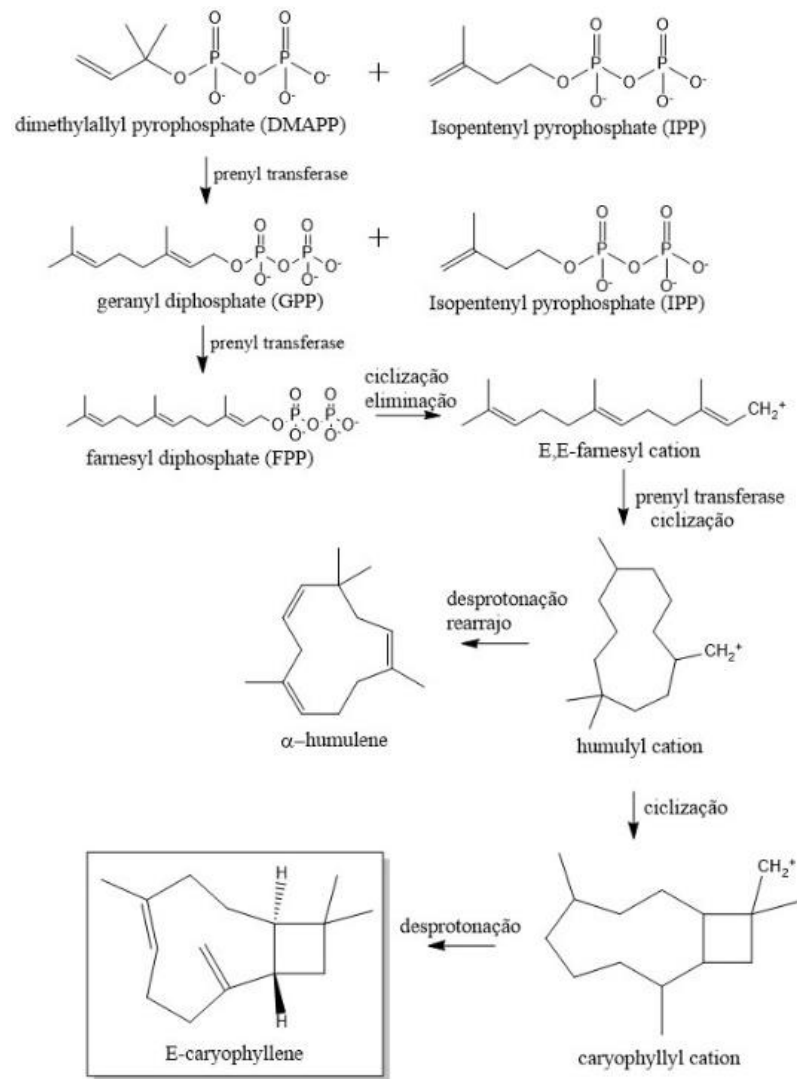


Figura 8. Biossíntese de *E*-cariofileno.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J. S.; COSTA, M. C. C. D.; NASCIMENTO, S. C.; SENA, K. X. F. R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p.436-440, 2008.

ACQUAAH, G. **Principles of plant genetics and breeding**. 2 ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2012. 758p.

BARROS, F. M. C. et al. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenoides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of Essential Oil: Science, Technology, and Applications**. Ohio: CRC Press, 2010. 994p.

BAYEUX, M. C.; FERNANDES, A. T.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Evalution of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica* DC. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.35, n.10, p.1229-1232, 2002.

BLANK, A.F.; SANTANA, T.C.P.; SANTOS, P.S.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; PRATA, A.P.; 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, n.1, p.831-837, 2011.

BLANK, A. F.; COSTA, A. G.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; CAVALCANTI, S. C. H.; ALVES, P. B.; INNECCO, R.; EHLER, P. A. D.; SOUZA, I. F. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 4, p. 557-564, 2007.

BOTREL, P. P.; PINTO, J. E. B, P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FIGUEIREDO, F. C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl. Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 533-538, 2010

BOMBARDA, I. et al. Spectrometric identifications of sesquiterpene alcohols from niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) essential oil. **Analytica Chimica Acta**, v. 447, p. 113-123, 2001.

BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; PIVA, G. H.; BARBOSA, N. A. A.; MENDONÇA, M. O.; FERNANDES, J. B. K. Efeito de acidificantes e extratos vegetais sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **ARS Veterinaria**, v. 24, n. 3, p. 186-192, 2008.

BORÉM, A; MIRANDA, C. V. **Melhoramento de plantas**. 6ed., Viçosa: Editora UFV, 2013. 523p.

BOTTIGNON, M. R.; RUFINO, E. R.; MARQUES, M. O. M.; COLOMBO, C. A.; FILHO, J. A. A.; LOURENÇÃO, A. L.; MARTINS, A. L. M.; SIQUEIRA, W. J. Heterogeneity of linalool chemotypes of *Lippia alba* (Mill) N. E. BR. Based on clonal half-sib progênies. **Scientia Agricola**. v.68, n.4, p.447-453, 2011

BRABRAND, A.; BAKKER, T. A.; FAAFENG, B. A. The ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis* and the abundance of roach (*Rutilus rutilus*): larval fish epidemics in relation to host behaviour. **Fisheries Research**, v.20, n.1, p.49-61, 1994.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta Fish**, v.4, n.2, p.50-58, 2016.

BRANDÃO, D. S.; MENDES, A. D. R.; SANTOS, R. R.; ROCHA, S. M. G.; LEITE, G. L. D.; MARTINS, E. R. Biologia floral e sistema reprodutivo da erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.17, n.4, p.562-569, 2015.

CARDOSO, P. H. M.; COSTA, A. R. BALIAN, S.C. Ectoparasitic fauna in freshwater ornamental fish acquired by a wholesaler in the city of São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 55, n. 4, p. 1-6, 2018.

CARNEIRO, F. B.; JUNIOR, I. D.; LOPES, P. Q.; MACEDO, R. O. Variation in the amount of β -caryophyllene in essential oil of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Lamiaceae under different conditions of cultivation. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p. 600-606, 2010.

CARNEIRO, P. C. F.; SCHORER, M.; MIKOS, J. D. Conventional therapeutic treatments on the control of the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* in (*Rhamdia quelen*). **Pesquisa Agropecuária**, v. 40, n. 1, p. 99-102, 2005.

CARVALHO, D.; KUNERT-FILHO, H. C.; BRITO, K. C. T.; ROCHA, A. F.; STECH, M. R.; CAVALLI, L. S.; BRITO, B. G. Isolamento e suscetibilidade antimicrobiana de bactérias oriundas de lesões causadas por Ictio em jundiá (*Rhamdia quelen*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.42, n.1, p.195-202, 2016.

CARVALHO, V. R. A.; SILVA, M. K. N.; AGUIAR, J. J. S.; BITU, V. C. N.; COSTA, J. G. M.; RIBEIRA-FILHO, J.; COUTINHO, H. D. M.; PINHO, A. I.; MATIAS, E. F. F. Antibiotic-Modifying activity and chemical profile of the essential oil from the leaves of *Cordia verbemacea* DC. **Taylor & Francis**, v.20, n.2, p.337-345, 2017.

CARVALHO, A. A.; TAVARES-DIAS, M. Diversity of parasites in *Cichlasoma amazonarum* Kullander, 1983 during rainy and dry seasons in eastern Amazon (Brazil). **Journal of Applied Ichthyology**, v.2017, p.1-6, 2017.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. UFV, 2004, 113p.

CAPAZ, P. S. C. **Avaliação da rebrota de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) cultivada em Parnaíba, PI e Botucatu, SP, na produtividade de biomassa e teor de alfa-humuleno do óleo essencial**. 2017. 55f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista ‘Julio de Mesquita Filho, Botucatu-SP.

CORAZZA, S. **Aromacologia**. São Paulo: SENAC, 2002, 414p.

DA SILVA, R. S.; OLIVEIRA, M. M. G.; SILVA, K. P.; RODRIGUES, I. S. V.; PINTO, V. S.; FERNANDES, R. P. M. Synergistic effect of *Cordia curassavica* Jacq. essential oils association against the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 4376-4389, 2020.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach**. 3ed. John Wiley & Sons, 2009.

DIAS, M. K. R.; NEVES, L. R.; MARINHO, R. G. B.; PINHEIRO, D. A.; TAVARES-DIAS, M. Parasitismo em tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus braschypomus*, Characidae) cultivados na Amazônia, Brasil. **Acta Amazonica**, v.45, n.2, p.231-238, 2015.

ENGEL, R.; VERES, K.; HAJDÚ, Z.; SZABÓ, K.; MÁTHÉ, I. Seasonal variation in the production of essential oil of *Artemisia asiatica* Nakai. **Planta Medica**, v. 80, p. 66-75, 2014.

ESSOILDB, National Institute of Plant Genome Research. Disponível em: <http://www.nipgr.ac.in/Essoildb/>. Acesso em: 02 nov. 2019.

FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**, Roma, 2018.

FERNANDES, T. O. M.; QUEIROZ, T. B.; ROCHA, S. M. G.; FONSECA, F. S. A.; AZEVEDO, A. M.; TEIXEIRA, G. L.; MARTINS, E. R. Seasonal variation in the essential oil from *Varronia curassavica* Jacq accessions. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 20, n. 6, p. 672-686, 2021.

GARCIA-FAYOS, P.; CASTELLANOS, M. C.; SEGARRA-MORAGUES, J. S. Germinação de sementes e alogamia de plântulas em *Rosmarinus officinalis*: os custos de endogamia. **Plant biology**, v. 20, n. 3, p. 627-635, 2018.

GASPARINO, E. C.; BARROS, M. A. V. C. Palinotaxonomia das espécies de Cordiaceae (Boraginales) ocorrentes no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**. v.32, n.1, p.33-55, 2009.

HOELTGEBAUM, M. P.; MONTAGNA, T.; LANDO, A. P.; PUTTKAMMER, C.; ORTH, A. I.; GUERRA, M. P.; REIS, M. S. Reproductive Biology of *Varronia curassavica* Jacq. (Boraginaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 90, n. 1, p. 59-71, 2018.

JORGENSEN, L. V. G. The fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis* – host immunology, vaccines and novel treatments. **Fish & Shellfish Immunology**, v.67, n.1, p.586-595, 2017.

KLEIN, S.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, REIDEL, A.; SIGNOR, A.; SIGNOR, A. A. Utilização de produtos químicos no controle de *Ichthyophthirius multifiliis*, Fouquet (1876) em alevinos de surubim do Iguazu *Steindachneridion* sp., Garavello (1991). **Semina: Ciência Agrárias**, v.25, n.1, p.51-58, 2004.

KUMAR, S. et al. Molecular diversity of terpene syntheses in the liverwort *Marchatia polymorpha*. **The Plant Cell**, v.28, p.2632-2650, 2016.

MACHADO, T. M.; JANANI, J. K.; FERREIRA, M. I.; ONO, E. O.; LIMA, G. P. P. Comportamento fisiológico de sementes de *Cordia verbenaceae* DC (Boraginaceae) sob diferentes substratos, temperaturas e luz. **Naturalla**, v.34, n.1, p.86-95, 2011.

MARQUES, A. P. S.; BONFIM, F. P. G.; DANTAS, W. F.C.; PUPPI, R. J.; MARQUES, M. O. M. Chemical composition of essential oil from *Varronia curassavica* Jacq. accessions in diferente seasons seasons of the year. **Industrial Crops & Products**, v.140, p.111656, 2019.

MENDES, A. D. R.; MARTINS, E. R.; FIGUEIREDO, L. S. Estudo do sistema de reprodução da fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 607-608, 2013.

MENDES, A. D.; NASCIMENTO, C. R.; QUEIROZ, T. B.; PINTO, V. B.; MARTINS, E. R. Ecogeografia de populações de erva-baleeira (*Varronia curassavica*) no Norte e Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais. **Ciências Rurais**, v.45, n.3, p.418-424, 2015.

MICHIELIN, E. M. Z.; SALVADOR, A. A.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA JUNIOR, A.; SMÂNIA, E. F. A. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**, v.100, n.24, p.6615-6623, 2009.

MILLER, J. S.; GOTTSCHLING, M. Generic classification in the Cordiaceae (Boraginales) resurrection of the genus *Varronia* P. Br. **Taxon**, v.56, n.1, p.163-169, 2007.

MONTANARI JUNIOR, I. **Variabilidade genética em uma população de *Cordia verbenacea* DC. Para características agronômicas e fitoquímicas**. 2011. 77f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2011.

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.; JUNIOR, A. W.; 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.

NIZIO, D. A. C.; BLANK, A. F.; SAMPAIO, T. S.; BRITO, F. A.; ANDRADE, T. M.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; MARIA, A. N. Distillation methods affects the chemical composition of *Varronia curassavica* Jacq. essential oil? **Bioscience Journal**, v.34, p.629-639, 2018a.

NIZIO, D. A. C.; FUJIMOTO, R. Y.; MARIA, A. N.; CARNEIRO, P. C. F.; FRANÇA, C. C. S.; SOUZA, N. C. S.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, T. S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BLANK, A. F. Essential oils of *Varronia curassavica* accessions have different activity against white spot disease in freshwater fish. *Parasitology Research*, v.117, n.1, p.97-105, 2018b.

NIZIO, D. A. C.; BLANK, A. F.; BRITO, F. A.; GAGLIARDI, P. R.; ALVES, E.; ARRIGONI-BLANK, M. F. A comparative study of the antifungal activity of essential oils of *Varronia curassavica* Jacq. obtained by different distillation methods. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 6, p. 1951-1960, 2020.

OLIVEIRA, B. M. S.; MELO, C. R.; SANTOS, A. C. C.; NASCIMENTO, L. F. A.; NIZIO, D. A. C.; CRISTALDO, P. F.; BLANK, A. F.; BACCI, L. Essential oils from *Varronia curassavica* (Cordiaceae) accessions and their compounds (E)-caryophyllene and α -humulene as an alternative to control *Dorymyrmex thoracicus* (Formicidae: Dolichoderinae). **Environmental Science and Pollution Research**, n. 26, n. 7, p. 6602-6612, 2019.

OLIVEIRA, B. M. S.; BLANK, A. F.; NIZIO, D. A. C.; NOGUEIRA, P. C. L.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BACCI, L.; MELO, C. R.; NASCIMENTO, L. F. A.; Chemical analyses of the essential oils from *Varronia curassavica* accessions in two seasons. **Journal of Essential Oil Research**, v.32, n.6, p.494-511, 2020.

OLIVEIRA, F. C. M. **Caracterização dos resíduos industriais gerados no processo de extração de óleos essenciais por arraste a vapor**. 2015. 122f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2015.

OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G. Volatile constituents of the stem and leaves of *Cordia* species from mountain Forest of Pernambuco (North-eastern Brazil). **Journal of Essential Oil Research**, v.19, n.1, p.444-448, 2007.

PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; FERREIRA, S.B.; ZORZZI, I.C.; NAVA, G.A. Biomassa e composição do óleo essencial de manjerição cultivado sob malhas fotoconversoras e colhido em diferentes épocas. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 46-53, 2016.

PERINI, J. A.; ANGELI-GAMBA, T.; ALESSANDRA-PERINI, J.; FERREIRA, L. C.; NASCIUTTI, L. E.; MACHADO, D. E. Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: a histopathological, immunohistochemical and biochemical study. **Complementary and Alternative Medicine**, v.15, n.203, p.1-8, 2015.

PINTO, V. S. **Influência da idade da planta na composição química do óleo essencial de *Lippia alba* de um ciclo de seleção recorrente na atividade formicida**. 2017. 55f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, 2017.

PINTO, J.A.O.; BLANK, A.F.; NOGUEIRA, P.C.L.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; ANDRADE, T.M.; SAMPAIO, T.S.; PERREIRA, K.L.G. Chemical characterization of the essential oil from leaves of brasil genotypes cultivated in different seasons. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.18, p.58-70, 2019.

PUBCHEM, National Center for Biotechnology Information, 2019. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Viridiflorol>. Acesso em: 04 nov 2019.

RAMOS, C.; BARROS, D.; GREGÓRIO, G.; TINÊO, M., BLUMM, V. *Cordia verbenacea*: planta contra inflamação. **Journal Phytomédica**, v.1, n. 1, p.1-7, 2005.

RAMOS, H. C. C.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. F.; VIANA, A. P.; FERREGUETTI, G. A. Seasonal and genetic influences on sex expression in a backcrossed segregating papaya population. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.11, n.2, p.97-105, 2011.

RODRIGUES, F. F. G.; OLIVEIRA, L. G. S.; COSTA, J. G. M. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. **Pharmacognosy Research**, v.4, n.3, p.161-165, 2012.

RUFINO, E. R. **Estimativas de parâmetro genéticos e seleção de clones Linalol em *Lippia alba***. 130 f. Dissertação (em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas, 2008.

STAPF, M. N. S.; SILVA, T. R. S. Four new of genus *Cordia* (Cordiaceae, Boraginales) from Brazil. **Brittonia**, v.65, n.2, p.191-199, 2013.

SYBENGA, J. **Cytogenetics in genetics and plant breeding**. Springer: Berlin, 1992.

SILVA, C. M. et al. Sesquiterpenoids of *Senecio bonoriensis* Hook & Arn., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.1, p. 87-92, 2010.

SILVA, K. P.; SANTOS, T. A. C.; MOUTINHO, B. L.; SILVA, R. S.; PINTO, V. S.; BLANK, A. F.; CORRÊA, C. B.; SCHER, R.; FERNANDES, R. P. M. Using *Varronia curassavica* (Cordiaceae) essential oil for the biocontrol of *Phytophthora blight*. **Industrial Crops & Products**, v. 139, p. 111523, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed., Artmed, 2013.

TANCREDO, K. R. **Imunização com *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet, 1876) em jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Guaimard, 1824): efeito na sobrevivência, resposta hemato-imunológica, bioquímica e histopatológica**. 2015. 85f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2015.

TRAN, D. N.; CRAMER, N. Biomimetic synthesis of (+)-ledene, (+)-viridiflorol, (-)-palustrol(+), spathulenol, and psigualdial A, C, and D via the platform terpene (+)-bicyclogermacrene. **Chemistry a European Journal**, v.20, p. 1-7, 2014.

TAVARES, I. B.; MOMENTE, V. G.; NASCIMENTO, I. R. *Lippia alba*: estudo químicos, etnofarmacológicos e agrônômicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada na Ciências Agrárias**, v.4, n.1, p.204-220, 2011.

WEEKS, A.; BAIRD, K. E.; MCMULLEN, C. K. Origin and evolution of endemic Galápagos *Varronia* species (Cordiaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.57, n.2, p.948-954, 2010.

VARGAS, R. J.; SOUZA, S. G.; MABILIA, R. G.; CARLET, F.; BAGGI, S. Resposta fisiológica á infestação experimental com *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet, 1876) em alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen* QUOY e GAIMARD, 1824) previamente alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.2, p.81-86, 2008.

VENTRELLA, M. C.; MARINHO, C. R. Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Botânica**, v.31, n.3, p.457-467, 2008.

XIMENES, L. F. Produção de pescado no Brasil e no nordeste brasileiro. **Caderno Setorial**, v. 5, n. 150, p. 1-16, 2021.

XU, D.; MOREIRA, G. S. A.; SHOEMAKER, C. A.; ZHANG, D.; BECK, B. H. Expression of immune genes in systemic and mucosal immune tissues of channel catfish vaccinated with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. **Fish and Shellfish Immunology**, 2017.

4. ARTIGO 1

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA DA ÁGUA RESIDUAL DA HIDRODESTILAÇÃO DE *Varronia curassavica*

RESUMO

O presente trabalho buscou avaliar o perfil químico e a atividade antiprotozoária da água residual da hidrodestilação de *V. curassavica* sobre o protozoário *Ichthyophthirius multifiliis*. Amostras de folhas dos acessos VCUR-202 e VCUR-503 foram submetidas ao processo de hidrodestilação (HD) por 140 min. Ao final do processo, a água residual contida nos balões foi filtrada, liofilizada e preparada para a análise química em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foram testadas diferentes concentrações da água residual da HD, entre 1,00 mg.L⁻¹ e 1000 mg.L⁻¹, que foram utilizadas para o cálculo das CL₅₀ e CL₉₀. Avaliou-se a mortalidade do protozoário nas fases trofante e tomonte após 4h exposição às diferentes concentrações da água residual. A água residual de ambos os acessos de *V. curassavica* VCUR-202 e VCUR-503 se mostraram tóxicos aos trofontes de *I. multifiliis* com CL₅₀ de 150,46 mg.L⁻¹ e de 121,67 mg.L⁻¹; e aos tomontes, com CL₅₀ de 199,63 mg.L⁻¹ e 122,65 mg.L⁻¹, respectivamente. Os resultados do presente trabalho mostram que o resíduo gerado no processo de hidrodestilação do óleo essencial de *V. curassavica* é rico em substâncias fenólicas do grupo dos flavonoides e ácidos fenólicos, e apresenta toxicidade sobre o parasita *I. multifiliis*.

Palavras-chave: erva-baleeira, extrato aquoso, folhas residuais, flavonoides, ácidos fenólicos, *Ichthyophthirius multifiliis*.

ABSTRACT

Chemical profile and antiprotozoal activity of wastewater from hydrodistillation of *Varronia curassavica*

The aim of the present study was to evaluate the chemical profile and the antiprotozoal activity of the residual water from hydrodistillation of *V. curassavica* on the protozoan *Ichthyophthirius multifiliis*. Leaf of accessions VCUR-202 and VCUR-503 underwent the hydrodistillation process for 140 min. At the end of the process, the residual water contained in the flasks was filtered, freeze dried, and prepared for chemical analysis in high performance liquid chromatography. Different concentrations of the residual water, between 1.00 mg.L⁻¹ and 1000 mg.L⁻¹ were tested, which were used to calculate LC₅₀ and LC₉₀. The mortality of the protozoan was evaluated in the trophont and tomont phases after 4-h exposure to the different concentrations of residual water. The residual water of both genotypes of *V. curassavica* proved to be toxic to the trophonts (VCUR-202 = 150.46 mg.L⁻¹ and VCUR-503 = 121.67 mg.L⁻¹) and tomonts (VCUR-202 = 199.63 mg.L⁻¹ and VCUR-503 = 122.65 mg.L⁻¹) of *I. multifiliis*. The results of the present study show that the residual water generated in the essential oil hydrodistillation process for *V. curassavica* is rich in phenolic substances of the flavonoid and phenolic acid group, and it is toxic to the parasite *I. multifiliis*.

Key-words: erva-baleeira; aqueous extract; essential oil distillation; flavonoids; phenolic acids; *Ichthyophthirius multifiliis*.

4.1. Introdução

Os óleos essenciais podem ser extraídos pelos métodos de arraste a vapor, hidrodestilação, prensagem a frio, extração por solvente, fluido supercrítico e microondas, dos quais a hidrodestilação é um dos métodos que pode levar ao acúmulo de resíduos agrícola (Dhouibi *et al.* 2020) que são potenciais causadores de impactos ambientais. No processo de hidrodestilação as partes vegetais (seja folha, caule, inflorescência, etc) são colocadas em um recipiente, geralmente um balão de fundo redondo, onde é adicionado água suficiente para total imersão do material, que é então aquecido (El Kharraf *et al.* 2020). O vapor gerado no cozimento das folhas carrega o óleo essencial que é condensado para a forma líquida, que ao final do processo é coletado e armazenado (Ngo *et al.*, 2020).

Dentre as espécies de destaque farmacológico, a *Varronia curassavica* (ex *Cordia verbenacea*) é um arbusto aromático utilizado na medicina tradicional (Miller & Gottschling 2007) que pode ser encontrada naturalmente em países da América Central e Sul (Weeks *et al.* 2010). Além do uso na indústria farmacêutica, na formulação de um fitoterápico anti-inflamatório, o óleo essencial dessa espécie apresenta atividade contra fitopatógenos (Silva *et al.* 2019) e contra o parasita de peixes de água-doce *Ichthyophthirius multifiliis*, sendo observada maior toxicidade sobre esse protozoário para os acessos VCUR-202 (rico em germacreno D-4-ol) e VCUR-503 [rico em *E*-cariofileno e viridiflorol] (Nizio *et al.* 2018).

O *I. multifiliis* é um protozoário unicelular, agente patogênico da ictioftiríase, comumente conhecida como “doença dos pontos brancos”, que traz prejuízos à indústria aquícola (Matthews 2005). Na fase infecciosa, os trofontes perfuram a pele do hospedeiro e se alimentam do tecido podendo levá-lo a morte ou podem atuar como porta de entrada para bactérias gram-negativas e fungos causadores de infecções secundárias em peixes jovens. Após se alimentar do peixe, os protozoários são liberados no ambiente na forma de tomontes, sendo uma importante fase para sua divisão celular e posterior liberação de novos indivíduos infectantes no ambiente aquático que serão responsáveis pela infecção de outros peixes (Xu *et al.* 2012). Os trofontes correspondem à fase adulta do protozoário, enquanto os tomontes correspondem à fase encistada e de multiplicação.

O principal produto comercial usado no controle do protozoário em peixes ornamentais é o verde malaquita, que é proibido em diversos países por deixar resíduos no animal, meio ambiente e ser um produto carcinogênico. As intervenções terapêuticas são limitadas. A forma mais eficiente para controle é o uso de desinfetantes que eliminam terontes e trofontes maduros recém eliminados. Estratégias para minimizar temos o vazio sanitário com limpeza e desinfecção do ambiente (Kwan *et al.* 2020). Neste sentido, existe uma demanda por produtos alternativos para controle desse parasita, dentre os quais, destaca-se os produtos de origem vegetal. O óleo essencial de alguns acessos de *V. curassavica* exibiram atividade contra o *I. multifiliis* (Nizio *et al.* 2018), entretanto, até o momento não há estudos envolvendo o potencial biológico do resíduo gerado durante a hidrodestilação das folhas dessa planta. Alguns trabalhos comprovaram a atividade antifúngica e antioxidante da água residual da hidrodestilação de *Artemisia campestris* (Rocha *et al.* 2021) e *Centaurea nicaeensis* (Dhouibi *et al.* 2020).

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil químico e a atividade antiprotozoária da água residual da hidrodestilação de *V. curassavica* sobre o *I. multifiliis*. Esse trabalho trará alternativa importante para a utilização dos resíduos da extração do óleo essencial dessa espécie, bem como, para auxiliar na redução dos impactos ambientais.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Material vegetal e preparação do extrato

Foram utilizados os acessos VCUR-503 e VCUR-202 da coleção de *Varronia curassavica* do Banco Ativo de Germoplasma de plantas medicinais e aromáticas da Universidade Federal de Sergipe, localizado na cidade de São Cristóvão, Sergipe, Brasil. O projeto está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A8CCB3B.

Folhas coletadas de ambos acessos foram submetidas a secagem em estufa com circulação de ar forçada a 40°C por 5 dias. Amostras de 70g de folhas secas foram colocadas em balão de vidro contendo 2,0 litros de água destilada, e submetidas a hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado, por 140 min após início da condensação (Nizio *et al.* 2018). Ao final do processo, o resíduo aquoso contido no balão de vidro foi transferido para erlenmeyer e filtrado em papel filtro qualitativo para remoção de restos vegetais e impurezas.

O volume filtrado foi transferido para frascos plásticos e congelados a -54°C em ultrafreezer (Liotop UFR 30). Após o congelamento, os frascos foram levados para o liofilizador (Liotop L101) sobre pressão de 79 µmHg por 5 dias. A água residual liofilizada obtida ao final do processo foi transferido para frascos de vidros e mantidos sobre refrigeração durante todo estudo.

4.2.2. Análise química

Para a análise cromatográfica, a água residual foi dissolvida em água ultrapura, agitada por alguns segundos e depois centrifugada (Eppendorf minispin, BioResearch, São Paulo, SP, Brasil) a 13,400 rpm por 5 min antes das análises de Cromatografia líquida (CL) para otimização das condições e padronização da metodologia de análise para cada acesso testado.

A melhor condição de separação dos compostos foi obtida após otimizações realizadas avaliando-se os seguintes parâmetro: a natureza da fase estacionária, como Kinetex C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm) e Kinetex fenil- hexil (150 × 4,6 mm, 5 µm; Phenomenex); modificador orgânico da fase móvel (metanol e acetonitrila); efeito da acidificação da fase aquosa com ácido fórmico; forma do gradiente de eluição e comprimento de onda para a detecção de compostos (entre 200 e 400 nm). O melhor método de separação foi então utilizado para a obtenção dos perfis químicos das amostras analisadas.

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido (Shimadzu - Quioto, Japão) modelo Prominence composto por: módulo de comunicação CBM-20A, degaseificador DGU-20A3, sistema binário de bombas LC-20AT, injetor automático SIL-

20AHT, detector espectrofotométrico com arranjo de diodos SPD-M20A, forno de colunas CTO-20A (Sistema Analítico). Os dados foram coletados e tratados usando o software LC Solution. O método cromatográfico utilizado para a separação dos compostos foi aquele em que se empregou coluna analítica Kinetex C18 (250 × 4,6 mm id, 5 µm; Phenomenex, Torrance, CA, EUA), fase móvel constituída por solução aquosa de ácido fórmico 0,5% (v/v) (A) e acetonitrila (B), empregando o seguinte gradiente de eluição: 5-20% de B em 15 min; 20-22% de B em 10 min; 22-25% de B em 10 min; 25-35% de B em 10 min; 35-55% de B em 3 min; 55-60% de B em 2 min; 60-100% de B em 5 min; isocrático em 100% de B por 5 min; retornando às condições iniciais do sistema em 5 min; mantendo um tempo de condicionamento da coluna entre as análises de 40 min. Foi utilizada vazão da fase móvel de 1,0 mL min⁻¹, volume de injeção da amostra de 25,0 µL e temperatura do forno da coluna a 30 °C. O monitoramento dos compostos presentes nas amostras foi realizado a 254 nm. As classes foram identificadas como descrito por Campos & Markham (2007).

4.2.3. Atividade antiprotozoária in vitro

Os protozoários de *I. multifiliis* foram obtidos de peixes infectados da espécie *Colossoma macropomum*. A multiplicação do parasita foi realizada utilizando 15 protozoários removidos dos peixes infectados e inoculados em béqueres de 2000 mL contendo peixes sadios. Após a infecção, os peixes foram anestesiados e sacrificados por concussão cerebral. Para remoção do protozoário na fase trofante, a pele do peixe foi submetida a raspagem superficial com auxílio de uma lâmina de vidro, e passaram por lavagem em água destilada para remoção do muco do peixe. Após separação, os protozoários foram transferidos para placas de Petri de poliestireno medindo 60 x 15 mm contendo água destilada. Foi preparada uma solução estoque da qual foram retiradas alíquotas específicas para garantir as concentrações a serem testadas.

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo comitê de ética para uso de animais da Embrapa Tabuleiros Costeiros sob o número de protocolo 03.13.09.005.00.05.001. Foram utilizadas duas fases do protozoário: trofontes (retirados da pele do peixe) e tomonete obtido através da incubação dos trofontes por 4h a 24°C, conforme metodologia descrita por Fu *et al.* (2014). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Foram testadas de 6 a 10 concentrações entre 1,00 mg.L⁻¹ e 1000 mg.L⁻¹. Cada unidade experimental foi composta por 10 protozoários. Foi avaliada a mortalidade dos trofontes e tomonetes de *I. multifiliis* após 4h de exposição às diferentes concentrações da água residual da hidrodestilação.

4.2.4. Análises estatísticas

Os dados de mortalidade foram submetidos a análise de probit para determinação das curvas de concentração-mortalidade. Foram aceitas as curvas cujas probabilidades de aceitação da hipótese de nulidade pelo teste de χ^2 foram maiores que 0,05. As concentrações letais foram estimadas para as mortalidades de 50 e 90% (CL₅₀ e CL₉₀) e os intervalos de confiança a 95% de probabilidade foram estimados usando o software SAS (PROC PROBIT).

4.3. Resultados

4.3.1. Análise química da água residual

Após a desidratação da água residual da hidrodestilação, o produto resultante apresentou consistência seca e pulverulenta de coloração amarelada. Não houve alteração na coloração do produto após 1 mês de obtenção e armazenamento em geladeira comum. A água residual liofilizada apresentou solubilidade em água na proporção 1:1, e se mostrou viável para aplicação no teste de toxicidade sobre o íctio.

No perfil químico obtido para os extratos observou-se 14 picos para ambos os acessos testados, sendo 11 deles identificados. As substâncias foram detectadas na faixa RT de 3-54 min, com maior concentração entre 12 e 23 min. Para o acesso VCUR-503, os picos 6, 9, 13 e

14 se apresentaram como majoritários, no entanto, o acesso VCUR-202, apesar de exibir as mesmas substâncias observadas para VCUR-503, apresentou majoritariedade para os picos 1, 3, 9, 13 e 14 (Figura 1).

Os espectros observados para cada substância se assemelham às classes de compostos flavonoide e ácido fenólico baseado em Campos & Markham (2007) (Figura 2 e Tabela 1).

4.3.2 Atividade antiprotozoária *in vitro*

A água residual obtida de ambos os genótipos de *V. curassavica* se mostraram tóxicas aos trofontes e tomontes de *I. multifiliis*. De acordo com o intervalo de confiança não foi verificado diferença significativa entre os acessos testados para trofontes. As concentrações necessárias para atingir 50% de mortalidade para essa fase do parasito foram 150,46 mg L⁻¹ (VCUR-202) e 121,67 mg L⁻¹ (VCUR-503). Para o efeito letal em 90% dos protozoários foram estimadas as concentrações de 534,46 mg L⁻¹ e 483,01 mg L⁻¹, respectivamente (Tabela 2).

Para a eliminação dos tomontes, o genótipo VCUR-503 se mostrou mais eficiente quando comparado ao VCUR-202, considerando a CL₅₀ (VCUR-202) e 122,06 mg L⁻¹ (VCUR-503). A toxicidade requerida para eliminar 90% do indivíduos foi superior para o VCUR-202, entretanto, houve um aumento de 4 vezes da CL₉₀ em relação a CL₅₀ para o VCUR-503, sendo observado as concentrações letais de 802,93 mg L⁻¹ (VCUR-202) e 668,13 mg L⁻¹ (VCUR-503) (Tabela 3).

4.4. Discussão

As substâncias encontradas na água residual dos acessos de *V. curassavica* estão de acordo com o perfil fitoquímico verificados na literatura. De acordo com trabalhos publicados com a espécie, os compostos dos grupos flavonoide (Roldão *et al.* 2008), tanino (Alves *et al.* 2014), calcone (Roldão *et al.* 2008), xantona (Alves *et al.* 2014) e fenol (Santi *et al.* 2014) estão comumente associados ao extrato das folhas e inflorescências do gênero *Varronia* (ex *Cordia*) conforme demonstrado na Tabela 4. Na literatura foram observados 12 grupos de metabólitos secundários de ocorrência mútua na *V. curassavica* (sin. *C. verbenacea*) (Roldão *et al.* 2008). Dentre eles, os flavonoides e os ácidos fenólicos foram os mais descritos nos artigos científicos dentro do gênero *Cordia*, como substâncias bioativas responsáveis por diversas propriedades medicinais.

Os flavonoides correspondem à maior classe de fenólicos vegetais de alto peso molecular. Sua estrutura é composta por 15 carbonos com esqueleto C6-C3-C6 organizados em dois anéis aromáticos substituídos (Alseekh *et al.* 2020). Essa classe pode se dividir em diferentes grupos (flavona, flavonol, isoflavona, flavanona, flavanol e diidroflavonóis) dependendo das alterações químicas no anel carbônico (Shakour *et al.* 2020). Em geral, os flavonoides apresentam uma estrutura composta por cadeias carbônicas compostas por hidroxilas (-OH) e grupos cetos (C=O).

Já os ácidos fenólicos são compostos que apresentam em sua estrutura química um anel benzênico e um grupo carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila. Podem ser divididos com base na sua origem como derivados do ácido hidroxibenzóico ou derivados do ácido hidroxicinâmico (Angelo & Jorge 2007). As moléculas predecessoras do ácido hidroxibenzóico possuem estrutura química composta por C1-C6, sendo o ácido gálico, *p*-hidroxicinâmico (Liu *et al.* 2019), com destaque para o protocateico, vanílico e siringido como principais representantes. Entretanto, os compostos originados do ácido hidroxicinâmico) são compostos aromáticos com três carbonos que formam uma cadeia lateral com C3-C6, dos quais são mais comuns em espécies do gênero *Cordia*, o ácido caféico e o ácido ferúlico (Oza *et al.* 2017; Marini *et al.* 2018).

A toxicidade de ambos acessos VCUR-202 e VCUR-503 de *V. curassavica* sobre o protozoário *I. multifiliis* pode estar relacionada à presença de flavonoides e compostos fenólicos como verificado em trabalhos que comprovaram a eficácia dessas substâncias no controle de

protozoários de importância na saúde humana como *Trypanosoma cruzi* (Baldim *et al.* 2017) e *Babesia bigemina* (Batiha *et al.* 2020). Entretanto, é perceptível que as concentrações requeridas para causar a mortalidade dos tomites foram superiores quando comparados aos trofontes. A principal explicação está relacionada ao fato do protozoário sintetizarem uma parede cística para proteger os tomites de danos ambientais durante a divisão binária, nesse caso, concentrações maiores seriam necessárias para provocar danos a parede e promover possível dano celular ao protozoário.

Tanto os ácidos fenólicos quanto os flavonoides possuem em suas estruturas hidroxilas (-OH) e cadeias carbônicas aromáticas. Entretanto, os ácidos fenólicos apresentam maior número de cadeias laterais e menor número de hidroxilas, enquanto os flavonoides são mais ricos em hidroxilas (Dewick, 2009). Essa diferença estrutural pode impactar acentuadamente sobre os mecanismos de ação dessas substâncias (Nakamura *et al.* 2020) e que foram responsáveis pela mortalidade do protozoário em estudo.

Esse radical OH pode interagir com componentes presentes na membrana celular com relativa polaridade e, em associação com cadeias hidrofóbicas, provocar uma desordem que leva ao extravasamento do conteúdo celular e morte de organismos unicelulares como protozoários e bactérias (Baranović & Šegota 2018, Wang *et al.* 2018).

4.5. Conclusão

Os resultados do presente trabalho mostram que o resíduo gerado no processo de hidrodestilação do óleo essencial de *V. curassavica* é rico em substâncias fenólicas do grupo dos flavonoides e ácidos fenólicos, e apresenta toxicidade sobre o parasita *I. multifiliis*. Este conhecimento pode abrir caminhos para reforçar a utilização industrial e sustentável dessa espécie medicinal e auxiliar no desenvolvimento de um método de controle alternativo desse importante parasita de peixes de água doce.

4.6. Referências Bibliográficas

- Alves, E., Santos, B. & Matias, E. 2014 Evaluation of Antibacterial Activity and Modulation Hexane Fraction of the Hexane Extract *Cordia verbenacea* DC. Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia 2, 1-6. <http://dx.doi.org/10.16891/2317.434X.96>
- Alseekh, S., Perez de Souza, L., Benina, M. & Fernie, A. R. 2020 The style and substance of plant flavonoid decoration; towards defining both structure and function. Phytochemistry 174, 112347. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112347>
- Angelo, P. M. & Jorge, N. 2007 Phenolic compounds in foods – A brief review. Revista do Instituto Adolfo Lutz 66, 1–9.
- Baldim, J. L., Alcantara, B. G. V. De, Domingos, O. D. S., Soares, M. G., Caldas, I. S., Novaes, R. D., Oliveira, T. B., Lago, J. H. G. & Chagas-Paula, D. A. 2017 The Correlation between Chemical Structures and Antioxidant, Prooxidant, and Antitrypanosomatid Properties of Flavonoids. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2017, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2017/3789856>
- Baranovic G, Segota S (2018) Infrared spectroscopy of flavones and flavonols. reexamination of the hydroxyl and carbonyl vibrations in relation to the interactions of flavonoids with membrane lipids. Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc 192:473-486. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.057>

- Batiha, G. E. S., Beshbishy, A. M., Guswanto, A., Nugraha, A., Munkhjargal, T., Abdel-Daim, M. M., Mosqueda, J. & Igarashi, I. 2020 Phytochemical characterization and chemotherapeutic potential of *Cinnamomum verum* extracts on the multiplication of protozoan parasites in vitro and in vivo. *Molecules* 25, 996. <https://doi.org/10.3390/molecules25040996>
- Campos, M. G. & Markham, K. R. 2007 Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra: flavones, flavonols and phenolic acids. Coimbra University Press, Coimbra.
- Dewick, P. M. Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach. 3ed. John Wiley & Sons, 2009.
- Dhouibi, N., Binous, H., Dhaouadi, H. & Dridi-Dhaouadi, S. 2020 Hydrodistillation residues of *Centaurea nicaensis* plant for copper and zinc ions removal: Novel concept for waste re-use. *Journal of Cleaner Production* 261, 121106. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121106>
- El Kharraf, S., Farah, A., Miguel, M. G., El-Guendouz, S. & El Hadrami, E. M. 2020 Two Extraction Methods of Essential Oils: Conventional and Non-conventional Hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 23, 870–889. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1843546>
- Fu, Y. W., Zhang, Q. Z., Xu, D. H., Liang, J. H. & Wang, B. 2014 Antiparasitic effect of cynatratoside-C from *Cynanchum atratum* against *Ichthyophthirius multifiliis* on grass carp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62, 7183–7189. <https://doi.org/10.1021/jf5018675>
- Liu, X., Wu, F., Au, C., Tao, Q., Pi, M. & Zhang, W. 2019 Synthesis of molecularly imprinted polymer by suspension polymerization for selective extraction of p-hydroxybenzoic acid from water. *Journal of Applied Polymer Science* 136, 46984. <https://doi.org/10.1002/app.46984>
- Marini, G., Graikou, K., Zengin, G., Karikas, G. A., Gupta, M. P. & Chinou, I. 2018 Phytochemical analysis and biological evaluation of three selected *Cordia* species from Panama. *Industrial Crops and Products* 120, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.037>
- Matthews, R. A. 2005 *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. *Advances in parasitology* 59, 159–241. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)59003-1](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)59003-1)
- Miller, J. S. & Gottschling, M. 2007 Generic classification in the Cordiaceae (Boraginales) resurrection of the genus *Varronia* P. Br. *Taxon*, 56, 163-169. <https://doi.org/10.2307/25065747>
- Nakamura S, Ando N, Sato M, Ishihara M (2020) Ultraviolet irradiation enhances the microbicidal activity of silver nanoparticles by hydroxyl radical. *Int Mol Sci* 21:1-11. <https://doi.org/10.3390/ijms21093204>
- Nizio, D. A. C., Fujimoto, R. Y., Maria, A. N., Carneiro, P. C. F., França, C. C. S., Souza, N. C. S., Brito, F. A., Sampaio, T. S., Arrigoni-Blank, M. F. & Blank, A. F. 2018 Essential

oils of *Varronia curassavica* accessions have different activity against white spot disease in freshwater fish. *Parasitology Research* 117, 97-105.

- Ngo, T. C. Q., Tran, T. H. & Le, X. T. 2020 The effects of influencing parameters on the *Eucalyptus globulus* leaves essential oil extraction by hydrodistillation method. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 991, 012126. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/991/1/012126>
- Oza, M. J. & Kulkarni, Y. A. 2017 Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of the medicinal species of the genus *Cordia* (Boraginaceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 69, 755-789. <https://doi.org/10.1111/jphp.12715>
- Rocha, M. I., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Pereira, C., Moreira, P., Salgueiro, L. & Figueirinha, A. 2021 Chemical characterization and bioactive potential of *Artemisia campestris* L. subsp. *maritima* (DC) Arcang. essential oil and hydrodistillation residual water. *Journal of Ethnopharmacology* 276, 114146. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114146>
- Roldão, E. F., Witaicenis, A., Seito, L. N., Hiruma-Lima, C. A. & Di Stasi, L. C. 2008 Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 119, 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.001>
- Santi, M. M., Sanches, F. S., Silva, J. F. M. & Santos, P. M. L. 2014 Phytochemical profile determination from extracts with antioxidant activity of the medicinal species of *Cordia verbenacea* DC. by HPLC-DAD. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s 16, 256-261. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000200014>
- Shakour, Z. T. A., Fayek, N. M. & Farag, M. A. 2020 How do biocatalysis and biotransformation affect Citrus dietary flavonoids chemistry and bioactivity? A review. *Critical Reviews in Biotechnology* 40, 689-714. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1753648>
- Silva, R. S., Oliveira, M. M. G., Silva, K. P., Rodrigues, I. S. V., Pinto, V. S., Blank, A. F. & Fernandes, R. P. M. 2019 Synergistic effect of *Cordia curassavica* Jacq. essential oils association against the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Environmental Science and Pollution Research* 27, 4376–4389. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06631-8>
- Wang, T. Y., Li, Q. & Bi, K. S. 2018 Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 13, 12-23. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>
- Weeks, A., Baird, K. E., McMullen, C. K. 2010 Origin and evolution of endemic Galápagos *Varronia* species (Cordiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57, 948–954. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.08.014>
- Xu, D. H., Shoemaker, C. A. & Klesius, P. H. 2012 *Ichthyophthirius multifiliis* as a potential vector of *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish. *FEMS Microbiology Letters*, 329, 160–167. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02518.xb>

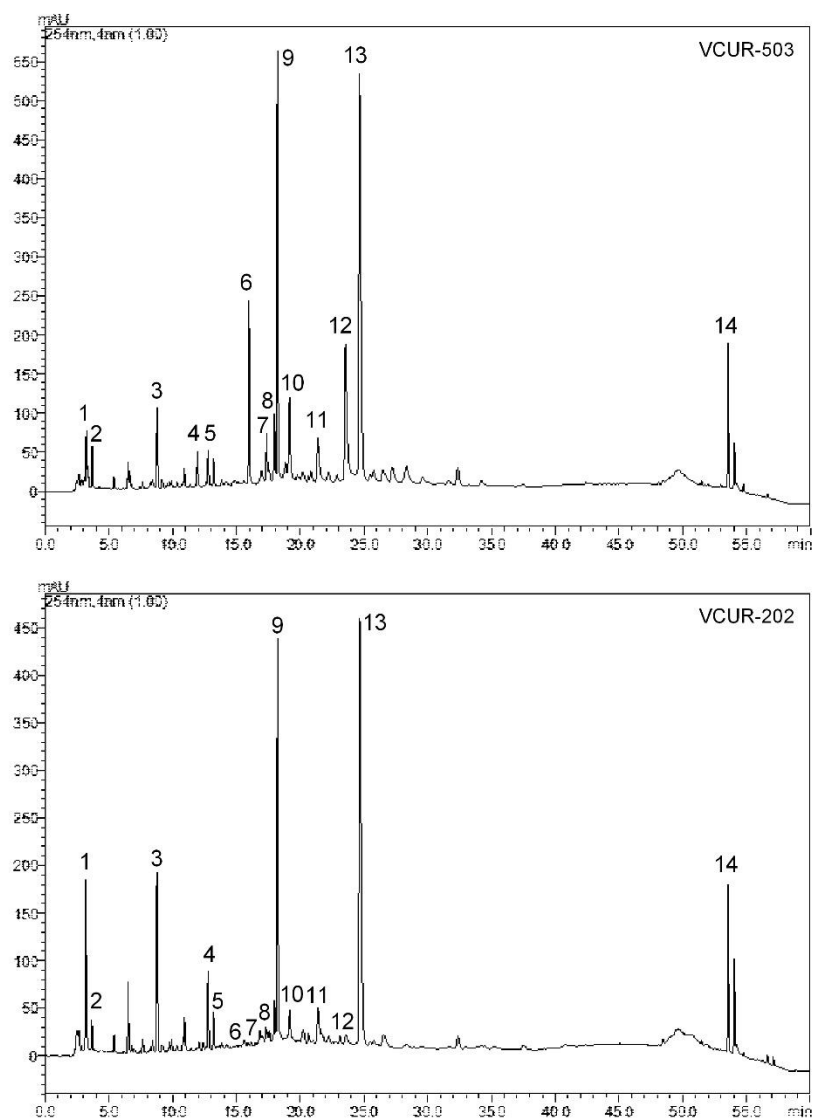


Fig. 1. Perfil cromatográfico da água residual da hidrodestilação do óleo essencial de dois acessos de *Varronia curassavica*.

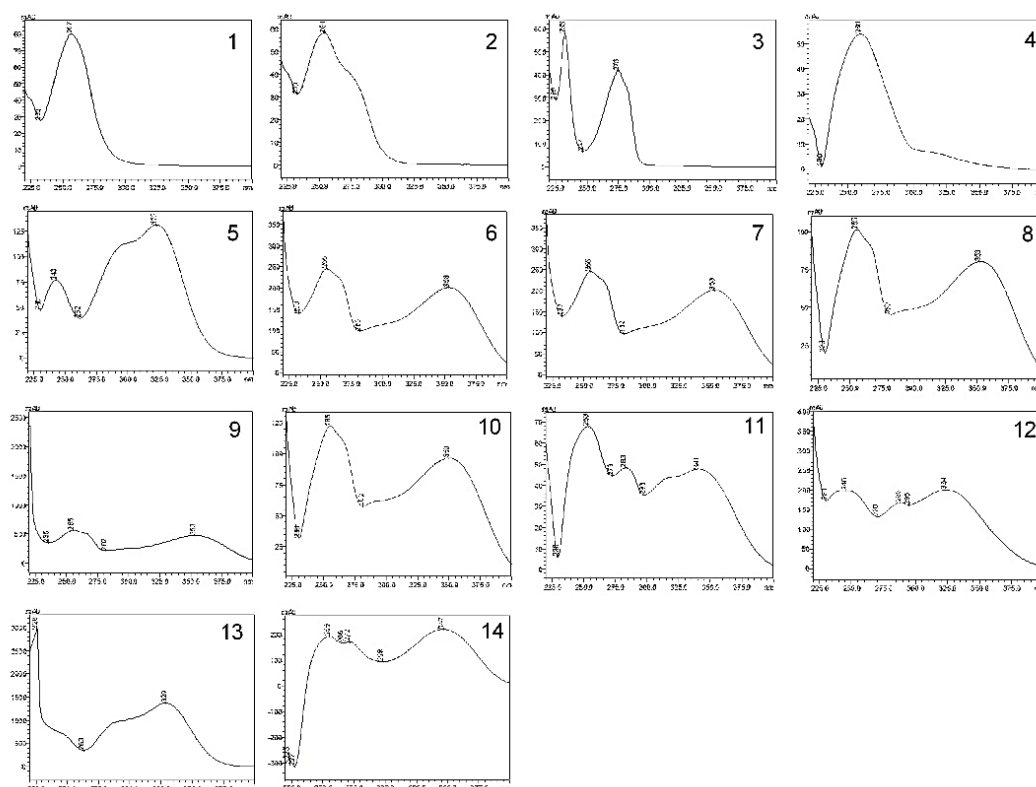


Fig. 2. Cromatogramas de LC-UV da solução residual do processo de óleo essencial de dois acessos de *Varronia curassavica*. (1) ácido fenólico; (2) ácido fenólico; (3) não indetificado 1; (4) flavonoide; (5) ácido fenólico; (6) flavonoide; (7) flavonoide; (8) flavonoide; (9) flavonoide; (10) flavonoide; (11) não indetificado 2; (12) não indetificado 3; (13) ácido fenólico; (14) flavonoide.

Tabela 1

Compostos fenólicos presentes na água residual da hidrodestilação de óleo essencial de dois acessos de *Varronia curassavica*.

Pico	RT (min)	λ UV (nm)	Classe de composto
1	3,45	257	ácido fenólico
2	4,01	254	ácido fenólico
3	8,66	233 (max.), 275	NI-1
4	12,28	260	flavonoide
5	12,67	243, 323 (max.)	ácido fenólico
6	16,54	255 (max.), 353	flavonoide
7	17,19	255 (max.), 351	flavonoide
8	17,79	255 (max.), 353	flavonoide
9	18,57	255 (max.), 353	flavonoide
10	18,97	255 (max.), 350	flavonoide
11	21,24	253 (max.), 341	NI-2
12	23,19	246, 324 (max.)	NI-3
13	35,63	226 (max.), 329	ácido fenólico
14	53,58	255, 347 (max.)	flavonoide

Tabela 2

Toxicidade (CL₅₀ e CL₉₀) da água residual da hidrodestilação do óleo essencial de dois acessos de *Varronia curassavica* sobre trofontes de *Ichthyophthirius multifiliis* após 4h de exposição.

Tratamento	CL ₅₀ (95% IC) (mg L ⁻¹)	CL ₉₀ (95% IC) (mg L ⁻¹)	χ^2	<i>p</i> -valor
VCUR-202	150,46 (131,09-169,58)	534,46 (436,13-712,67)	6,410	0,914
VCUR-503	121,67 (92,93-147,68)	483,00 (408,04-603,72)	2,927	0,596

Tabela 3

Toxicidade (CL₅₀ e CL₉₀) da água residual da hidrodestilação do óleo essencial de dois acessos de *Varronia curassavica* sobre tomontes de *Ichthyophthirius multifiliis* após 4h de exposição.

Tratamento	CL ₅₀ (95% IC) (mg L ⁻¹)	CL ₉₀ (95% IC) (mg L ⁻¹)	χ^2	<i>p</i> -valor
VCUR-202	199,63 (170,65-227,25)	802,93 (630,13-1161,16)	6,420	0,935
VCUR-503	122,06 (98,45-142,31)	668,13 (455,68-1396,32)	0,421	0,935

5. ARTIGO 2

DESEMPENHO DE PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE *Varronia curassavica*: ANÁLISES MORFOAGRONÔMICA, QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA CONTRA *Ichthyophthirius multifiliis*

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho morfoagronômico e químico de progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* e avaliar a atividade antiprotozoária *in vitro* do óleo essencial (OE) sobre *Ichthyophthirius multifiliis*. Os experimentos foram conduzidos na fazenda experimental “Campus Rural da UFS” e na Emprapa Tabuleiros Costeiros. Foram coletadas sementes no acesso parental VCUR-503 (quimiotipo *E*-cariofileno/viridiflorol) e semeadas em sementeiras individualizadas contendo solo de textura média. As plântulas geradas constituíram progênies de meios-irmãos. Essas, juntamente com o parental materno foram transferidas para campo em espaçamento 1,0 x 1,0 m. Foram avaliadas características morfológicas diversas, além de massa seca, teor, rendimento de OE, composição química do OE, e a atividade antiprotozoária sobre *I. multifiliis*. Os dados foram submetidos a análise de variância e multivariada. A análise de agrupamento morfológico indicou a presença de dois grupos, sendo observada diferença apenas para altura de planta (Grupo I = 146,57±21,56 cm e Grupo II = 202,25±16,82 cm). As progênies de meios-irmãos VCUR-503-42 e VCUR-503-58 se destacaram por produzirem matéria seca superior a 500 g.planta⁻¹. Para o teor e rendimento de OE, 71% e 43% das progênies de meios-irmãos foram superiores ao parental VCUR-503, respectivamente. A análise de agrupamento químico evidenciou a formação de dois grupos, sendo o grupo II formado por 22 progênies com maiores teores de α -pineno (7,92%), *E*-cariofileno (7,77%) e viridiflorol (46,74%). Progênies de meios-irmãos com teores de viridiflorol entre 42,41% e 64,74% proporcionaram mortalidade do protozoário na concentração de 10 mg.L⁻¹ que variaram entre 35% e 72%. Observou-se que além do *E*-cariofileno, outros compostos podem atuar de forma sinérgica com o viridiflorol, enquanto compostos como α -pineno e germacreno D, podem atuar de forma antagônica, reduzindo a atividade antiprotozoária do óleo essencial. A obtenção de progênies de meios-irmãos proporcionou a melhoria de diversas características agronômicas e químicas. Dentre as progênies de meios-irmãos que apresentaram superioridade ao parental feminino quanto às características agronômicas e químicas simultaneamente, pôde-se destacar as seguintes VCUR-503-30, VCUR-503-75, VCUR-503-79, VCUR-503-101 e VCUR-503-119.

Palavras-chave: *Varronia curassavica*, melhoramento vegetal, óleo essencial, viridiflorol, *Ichthyophthirius multifiliis*.

ABSTRACT

Performance of half-sib progenes of *Varronia curassavica*: morphoagronomic, chemical and antiprotozoa activity analysis against *ichthyophthirius multifiliis*

The objective of the present work was to evaluate the morphoagronomic and chemical performance of *Varronia curassavica* half-sib progenies and to evaluate the in vitro antiprotozoal activity of the essential oil on *Ichthyophthirius multifiliis*. The experiments were carried out at the experimental farm “Campus Rural da UFS” and at Emprapa Tabuleiros Costeiros. Seeds were collected from the parental accession VCUR-503 (chemotype *E-caryophyllene*/viridiflorol) and sown in individual seedbeds containing medium textured soil. The generated seedlings constituted half-sib progenies. These, along with the maternal parent, were transferred to the field at 1.0 x 1.0 m spacing. Different morphological characteristics were evaluated, in addition to dry mass, content, EO yield, EO chemical composition, and antiprotozoal activity against *I. multifiliis*. Data were submitted to analysis of variance and multivariate. The morphological cluster analysis indicated the presence of two groups, with differences being observed only for plant height (Group I = 146.57±21.56 cm and Group II = 202.25±16.82 cm). The half-sib progenies VCUR-503-42 and VCUR-503-58 stood out for producing dry matter greater than 500 g.plant⁻¹. For EO content and yield, 71% and 43% of half-sib progenies were superior to the parental VCUR-503, respectively. The chemical cluster analysis showed the formation of two groups, with group II formed by 22 progenies with higher levels of α -pinene (7.92%), *E*-caryophyllene (7.77%) and viridiflorol (46, 74%). Half-sib progenies with viridiflorol contents between 42.41% and 64.74% provided protozoan mortality at a concentration of 10 mg.L⁻¹, which varied between 35% and 72%. Observou-se que além do *E*-cariofileno, outros compostos podem atuar de forma sinérgica com o viridiflorol, enquanto compostos como α -pineno e germacreno D, podem atuar de forma antagônica, reduzindo a atividade antiprotozoária do óleo essencial. Obtaining half-sib progenies provided the improvement of several agronomic and chemical characteristics. Among the half-sib progenies that showed superiority to the female parent regarding the agronomic and chemical characteristics simultaneously, the following VCUR-503-30, VCUR-503-75, VCUR-503-79, VCUR-503-101 could be highlighted. and VCUR-503-119.

Key-words: *Varronia curassavica*, recurrent selection, plant breeding, essential oil, *Ichthyophthirius multifiliis*

5.1. Introdução

A *Varronia curassavica* Jacq. syn. *Cordia verbenacea* DC. é uma planta medicinal e aromática nativa do Brasil com importância econômica e farmacêutica (Miller e Gottschling, 2007, Perini et al., 2015). A alta plasticidade fenotípica dessa espécie permite que ela ocorra espontaneamente em biomas brasileiros como caatinga, cerrado e mata-atlântica, além de existirem relatos de sua ocorrência em regiões de outros países (Weeks et al., 2010, Mendes et al., 2015, Carvalho et al., 2017).

A *V. curassavica* é uma espécie alógama de porte arbustivo, perene e pode atingir dois metros de altura (Hoeltgebaum et al., 2018). Suas folhas possuem tricomas glandulares que produzem óleos essenciais que são empregados no desenvolvimento de fitoterápicos e aromatizantes (Ventrella e Marinho, 2008; Basting et al., 2019). Além da aplicação medicinal, a espécie vem apresentando resultados de pesquisa satisfatórios no combate a pragas na piscicultura. A ação biocida do óleo essencial sobre o protozoário parasita *Ichthyophthirius multifiliis* em peixes de água doce foi comprovado por Nizio et al. (2018).

Esse protozoário apresenta duas fases importantes para o processo infeccioso no peixe: trofante e tomonete. Na fase trofante, os protozoários estão aderidos ao muco do peixe e

procovam perfurações em sua pele, já na fase tomonte, o protozoário se desprende do peixe e cria uma parede cística responsável por proteger sua fase de multiplicação. Esse protozoário é responsável por causar grandes danos econômicos na aquicultura mundial, sendo o agente causal da ictiofíriase ou “doença dos pontos brancos”. Além disso, a rápida multiplicação e resistência aos produtos comerciais, dificultam seu controle, e comprometem a criação de peixes para alimentação ou ornamentação (Matthews, 2005; Xu et al., 2012; Cararo et al., 2017; Kwan et al., 2020).

Nos últimos anos, diversos estudos ressaltaram a necessidade de tratamento alternativo para essa doença, incluindo a busca por espécies medicinais com ação biocida (Liang et al., 2015; Lin et al., 2016; Baldissera et al., 2018). Dentre os compostos que conferem a atividade antiprotozoária do óleo essencial de *V. curassavica* contra o *I. multifiliis*, estão os sesquiterpenos *E*-cariofileno e viridiflorol. Entretanto, os baixos teores desses compostos comprometem o uso dessa espécie vegetal como matéria-prima no desenvolvimento de futuros produtos. Por essa razão, a aplicação de métodos de melhoramento torna-se necessário para o desenvolvimento de cultivares que atendam a essas exigências.

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de progênies de meios-irmãos de *V. curassavica* quanto às características morfoagronômicas, químicas e atividade antiprotozoária do óleo essencial sobre *I. multifiliis*.

5.2. Material e Métodos

5.2.1. Material vegetal

O experimento foi implantado na fazenda experimental “Campus Rural da UFS”, localizado no município de São Cristóvão-SE, com coordenadas geográficas latitude 11°00’S e longitude 37°12’W.

5.2.2. Obtenção das progênies de meios-irmãos

O método de melhoramento utilizado foi a seleção recorrente. Para obtenção das progênies de meios-irmãos, foram coletadas sementes do acesso VCUR-503 (quimiotipo *E*-cariofileno /viridiflorol), mantido juntamente com outros acessos da coleção de *V. curassavica*, do banco ativo de germoplasma (BAG) de plantas medicinais e aromáticas da Universidade Federal de Sergipe (SISGEN A8CCB3B).

As sementes coletadas constituíram as progênies de meios-irmãos. Antes da coleta das sementes foi realizado um monitoramento diário das inflorescências do acesso VCUR-503 para identificar a presença de flores fecundadas e de frutos em estágio de maturidade fisiológica (cor vermelha). As inflorescências foram protegidas por sacos de tecido-não-tecido (TNT), quando apresentavam mais de 50% das flores fecundadas, para garantir que os frutos fossem coletados íntegros, sem danos às sementes formadas.

Os frutos coletados foram acondicionados em sacos de papel e, posteriormente, submetidos a lavagem em água corrente para remoção de toda a polpa. As sementes foram semeadas em sementeiras individualizadas contendo solo de textura média coletado na coleção de *V. curassavica* do BAG e transferidas para casa de vegetação com irrigação. Após a formação do terceiro par de folhas, as plantas foram transferidas para copos de polietileno contendo o mesmo substrato acrescido de esterco bovino na proporção 3:1. Cada planta foi identificada com o código do parental materno VCUR-503 seguido de um número cardinal da progênie (ex. VCUR-503-01). Uma muda do parental materno foi produzida por estaquia no mesmo período de desenvolvimento das progênies de meios-irmãos na casa de vegetação. Ao total, foram obtidas 88 progênies de meios-irmãos.

Após 60 dias, as progênies e o parental materno foram transferidas para o campo (março/2018) em espaçamento 1,0 x 1,0 m, sendo identificadas por estacas de madeira. Para o preparo do solo foi realizada aração e gradagem. A adubação de fundação foi realizada com 1.0 L/cova de esterco bovino curtido. Para adubação de cobertura foi realizada aplicação da dose

de 3.0 L/planta de esterco bovino curtido. As plantas permaneceram sem irrigação por todo o experimento, afim de proporcionar maior pressão de seleção e identificação de materiais tolerantes a seca.

5.2.3. Avaliação morfológica

Aos 180 dias após o transplântio para campo foram realizadas as avaliações morfológicas. Foram utilizados como descritores morfológicos as seguintes características morfológicas: altura da planta (AL) medida da região do colo até a maior ramificação (cm); diâmetro da copa (DCO) medindo-se dois galhos paralelos em direções opostas (cm); comprimento do pecíolo (CP); comprimento (CF) e largura da folha (LF) realizada em 5 folhas entre a 5° e 7° região nodal (cm); comprimento do internódio (CI) realizada entre a 4° e 8° região nodal (cm); diâmetro do caule (DC) a 10 cm do solo (cm) e área foliar (AF) (mm²). Para análise da área foliar foram utilizadas 10 folhas do 5° e 6° nó de cada planta, com auxílio de um medidor de área foliar modelo LI-COR modelo LI-3100c.

5.2.4. Avaliação agronômica

A colheita da parte aérea ocorreu aos 300 dias após o transplântio (janeiro/2019), através de um corte da planta a 40 cm do nível do solo. Os materiais colhidos foram desfolhados e levados a estufa com circulação forçada de ar a 40°C±1 por cinco dias (Ehlert et al. 2006). Após a secagem, o material foi pesado para determinação da massa seca de folhas (MSF) e inflorescências (g.planta⁻¹). Para determinação do teor (TOE) e rendimento do óleo essencial (ROE) foram pesados 35g de folhas e inflorescências e transferidos para balões de vidro com capacidade para 3000 mL com adição de 1500 mL de água destilada. O material foi submetido ao processo de hidrodestilação em aparelho Clevenger por 140 min, em triplicata, para extração do óleo essencial (Nizio et al. 2018). O teor (TOE) e rendimento de óleo essencial (ROE) foram calculados de acordo com as fórmulas:

$$\text{Teor de Óleo Essencial (\%)} = \left(\frac{v}{m} \right) \times 100$$

Onde: v= volume de óleo essencial extraído da amostra; m= massa seca da amostra.

$$\text{Rendimento de Óleo Essencial (mL.planta}^{-1}\text{)} = \left(\frac{\text{TOE} \times \text{MSF}}{100} \right)$$

Onde: MSF= massa seca de folhas e inflorescências.

Após extração, os óleos essenciais foram mantidos em frascos âmbar e armazenados em freezer até análise química.

5.2.5. Caracterização química

As análises químicas foram realizadas em um equipamento CG/EM/DIC (GCMSQP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um amostrador com injeção automática AOC-20i (Shimadzu) seguindo metodologia descrita por Sampaio et al. (2016). A identificação dos componentes foi realizada com base na comparação do índice de retenção (Van den dool e Kratz, 1963) para uma série homóloga de n-alcanos obtidas por co-injeção de amostras de petróleo com uma mistura de hidrocarbonetos lineares, bem como através da comparação dos espectros com os bancos de dados e NIST21 e NIST107 da biblioteca CG / EM e espectros de massa publicados (Adams 2017).

5.2.6. Ensaio de atividade antiprotozoária

Peixes infestados com o parasita foram adquiridos comercialmente. Os parasitas foram isolados através da raspagem da pele do peixe com auxílio de uma lâmina de vidro retirando-

os juntamente com a mucosa. O produto da raspagem passou por lavagem em água destilada para separação e seleção dos parasitas.

A multiplicação dos parasitas foi realizada em béqueres contendo água de aquário e peixes sadios da espécie *Colossoma macropomum*, onde foram acrescentados 15 protozoários ativos. Após a infestação, os peixes foram anestesiados e sacrificados por concussão cerebral. Para remoção do protozoário na fase trofante, a pele do peixe foi submetida a raspagem conforme descrito inicialmente. Após separação, os protozoários foram transferidos para placas de Petri de poliestireno medindo 60 x 15 mm contendo água destilada. Foi preparada uma solução estoque com o óleo essencial da qual foram retiradas alíquotas específicas para garantir as concentrações a serem testadas.

Cada unidade experimental foi composta por 10 protozoários. Foi avaliada a mortalidade dos trofontes e tomontes de *I. multifiliis* após 1h de exposição às diferentes concentrações do óleo essencial das progênies de meios-irmãos VCUR-503-119, VCUR-503-91, VCUR-503-34, VCUR-503-66 e VCUR-503-101, além do parental VCUR-503. As concentrações iniciais testadas foram: 0,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75,0 mg. L⁻¹, além do controle água+tween 80, conforme descrito por Nizio et al. (2018). A mortalidade obtida na concentração de 10 mg. L⁻¹ foi utilizada para diferenciação das progênies.

5.2.7. Análise estatística

Os dados morfológicos e químicos foram submetidos a análise multivariada (análise de agrupamento e análise de componentes principais) usando o software Statistica 7.0. A dissimilaridade entre as progênies de meios-irmãos e parental foi simplificada através de dendrograma com base na distância euclidiana pelo método de Ward. Para os dados agrônômicos foram excluídas as progênies de meios-irmãos que apresentaram MSF inferior a 100 g.planta⁻¹, sendo selecionadas apenas aquelas que produziram MSF superior a esse valor. Dessa forma, foram consideradas 72 progênies de meios-irmãos, para as quais os dados foram submetidos à análise de variância e teste de agrupamento de Scott Knott ($p \geq 0,05$) para as variáveis TOE e ROE. O corte para formação dos grupos foi realizado a 70% da distância euclidiana máxima. As médias dos dados morfoagronômicos e químicos foram comparadas com seus respectivos desvios padrão usando o software Graph Pad Prism®. Os dados referentes a atividade antiprotozoária foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

5.3. Resultados

5.3.1. Análise morfoagronômica

Observou-se alta variabilidade morfológica entre as progênies de meios-irmãos para todas as variáveis. As medidas variaram de 2,50-6,10 cm para largura da folha (LF); 7,70-20,00 cm para comprimento da folha (CF); 0,30-1,40 cm para comprimento do pecíolo (CP); 9,46-38,27 cm² para área foliar (AF); 94,00-252,00 cm para altura de planta (AL); 2,40-9,20 cm para diâmetro do caule e 94,10-298,00 cm para diâmetro da copa (DCO) (Tabela 1). Ao se comparar os valores observados para o acesso VCUR-503 com as 88 progênies de meios-irmãos, observamos que 85 progênies foram superiores ao parental quanto à LF; 20 foram superiores quanto ao CF; 76 foram superiores quanto a AF. Um total de 67 e 50 progênies foram numericamente superiores ao VCUR-503 quanto a AL e ao DCO, respectivamente.

Inserir tabela 1

Na análise de agrupamento dois grupos foram formados de acordo com a similaridade morfológica: Grupo I constituído pelo parental VCUR-503 e 44 progênies; e o Grupo II formado por 44 progênies (Figura 1).

Inserir figura 1

De acordo com a sobreposição dos desvios padrões foi observada diferença significativa entre os grupos apenas para AL (Grupo I = $146,57 \pm 21,56$ cm e Grupo II = $202,25 \pm 16,82$ cm) (Tabela 2).

Inserir tabela 2

De acordo com a análise de componentes principais (ACP) (Figura 2), o componente principal primário representou 30,54% da variância total e se correlacionou positivamente com as variáveis LF ($r=0,86$), CF ($r=0,74$) e CP ($r=0,73$). O componente principal secundário representou 25,98% da variância total e se correlacionou positivamente com AL ($r=0,89$) e DCO ($r=0,88$).

Inserir figura 2

Considerando as variáveis agronômicas, observou-se diferença significativa entre as 72 progênies tanto para teor de óleo essencial (TOE) quanto para rendimento de óleo essencial (ROE). A produção de massa seca de folhas e inflorescências (MSF) foi superior à média da população ($230,58 \text{ g.planta}^{-1}$) em 29 progênies de meios-irmãos, com destaque para VCUR-503-42 ($555,5 \text{ g.planta}^{-1}$) e VCUR-503-58 ($610,70 \text{ g.planta}^{-1}$) que produziram acima de $500 \text{ g.planta}^{-1}$ (Tabela 3). As progênies VCUR-503-101 (2,38%), VCUR-503-102 (2,34%) e VCUR-503-112 (2,24%) obtiveram as maiores médias para TOE, sendo que 51 das 72 progênies de meios-irmãos foram superiores ao parental VCUR-503 (1,07%). Para ROE 43,0% das progênies apresentaram médias superiores ao parental ($2,58 \text{ mL.planta}^{-1}$) com destaque para VCUR-503-30 ($5,99 \text{ mL.planta}^{-1}$) e VCUR-503-42 ($6,35 \text{ mL.planta}^{-1}$) (Tabela 3).

Inserir tabela 3

Na análise de correlação, as variáveis altura da planta (AP) e o diâmetro da copa (DCO) se correlacionaram positivamente ($r=0,75$). A massa seca de folhas apresentou correlação positiva com a variável rendimento de óleo essencial (ROE) ($r=0,63$). As demais correlações se mostraram muito baixas (Tabela 4).

Inserir tabela 4

5.3.2. Caracterização fitoquímica

Com base na análise química, 115 compostos foram detectados no óleo essencial das progênies de meios-irmãos e parental de *V. curassavica*, porém, foram mantidos 57 compostos para a análise estatística os quais apresentaram um teor mínimo de 5% em alguma amostra. Desses, 34 foram identificados, sendo estes: tricicleno, α -pineno, canfeno, sabineno, β -pineno, terpinen-4-ol, δ -elemeno, α -gurjuneno, *E*-cariofileno, γ -elemeno, α -humuleno, α -zingibereno, germacreno D, β -selineno, biciclogermacreno, δ -amorfenol, cis-calameneno, trans-calameneno, δ -cadineno, β -cadineno, ar-turmerol, espatulenol, globulol, óxido de cariofileno, guaíol, viridiflorol, 7-ciclododecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil), epi- α -cadinol, epi- α -muurolol, δ -cadinol, ar-turmerona, α -cadinol, 5-neo-cedranol e 2E,6E-metil farnesoato.

A análise de agrupamento proporcionou a formação de dois grupos químicos: Grupo I, formado pelo acesso parental VCUR-503, mais 66 progênies de meios-irmãos com as maiores médias dos compostos α -pineno (6,28%), *E*-cariofileno (11,68%) e 7-ciclododecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil) (4,47%) (Figura 3 e 4). O Grupo II formado por 22 progênies de

meios-irmãos apresentou maiores médias dos compostos α -pineno (7,92%), *E*-cariofileno (7,77%) e viridiflorol (46,74%) (Figura 3 e 4).

Inserir figura 3

Inserir figura 4

De acordo com a análise de componentes principais (ACP) (Figura 5), o componente principal primário representou 10,49% da variância total e foi correlacionado positivamente com o composto C51 [202M+ 67(60), 69(99); 91(69); 93(71); 95(100); 109(71); 132(59); 202(71)], ($r=0,82$). O componente principal secundário representou 9,43% da variância total e foi correlacionado negativamente com o composto C30 [222M+ 81(64); 105(62); 161(100)], ($r=-0,84$), C25 [222M+ 41(72); 55(56); 67(61); 69(68); 81(100); 93(80); 95(51); 109(79)], ($r=-0,89$) e epi- α -muurolol (C47), ($r=-0,86$).

Inserir figura 5

Os teores de *E*-cariofileno (0,00-23,61%) e viridiflorol (0,00-64,74%) expressaram significativa variação na população em estudo, sendo verificado ausência de *E*-cariofileno apenas na progênie VCUR-503-42. Para o viridiflorol, das 88 progênies de meios-irmãos analisadas cerca de 38 delas não apresentaram esse composto em seu óleo essencial (Tabela 5). O maior teor de *E*-cariofileno foi observada para a progênie VCUR-503-06 (23,61%). Já para o viridiflorol as progênies VCUR-503-66 (64,74%) e VCUR-503-119 (61,38%) se destacaram com teores superiores a 60% (Tabela 5).

Inserir tabela 5

5.3.3. Atividade antiprotozoária

A mortalidade sobre os trofontes de *I. multifiliis* proporcionada pelo óleo essencial da progênie VCUR-503-119 foi superior (72%) e diferiu significativamente da progênie VCUR-503-101 (35%) assim como do parental VCUR-503 (20%) (Tabela 6).

Inserir tabela 6

Ao analisar a correlação entre os teores dos principais compostos isoladamente, e a soma desses compostos + viridiflorol com a mortalidade proporcionada pelos óleos essenciais, considerando as progênies avaliadas no ensaio de atividade antiprotozoária, observou-se que apenas o viridiflorol apresentou correlação forte e positiva com a mortalidade ($r=0,81$) (Tabela 7). Porém, ao considerar a soma do viridiflorol com outros compostos, observou-se que a correlação com a mortalidade foi positiva para todos. Além disso, a soma dos teores de viridiflorol + *E*-cariofileno, viridiflorol + α -humuleno e viridiflorol + biciclogermacreno, apresentaram correlações de 0,88, 0,83 e 0,83 com a mortalidade do protozoário, respectivamente. Sendo estas, maiores do que a correlação considerando o viridiflorol isoladamente (0,81) (Tabela 7).

Inserir tabela 7

5.4. Discussão

A avaliação das características morfológicas é uma etapa importante para a determinação de cultivares promissoras para o cultivo agrícola. A área foliar das progênies

avaliadas no presente estudo foi superior ao encontrado por Oliveira et al. (2020) que avaliaram as características morfoagronômicas dos acessos mantidos no BAG, os quais constituíram os possíveis parentais masculinos (doadores de pólen) na obtenção das progênies de meios-irmãos. Nesse trabalho, a média populacional dos acessos foi de 18,57 cm² para a área foliar, enquanto no presente trabalho foi de 22,85 cm². A maior área foliar pode implicar em uma maior produção de óleo essencial como verificado por Paulus et al. (2013), em *Aloysia triphylla*, no entanto, no presente estudo não se observou correlação entre área foliar e teor de óleo essencial. Conforme relatado por Chandra et al. (2020), em estudo com as espécies *Ocimum basilicum* e *Ocimum sanctum*, as folhas possuem tricomas glandulares que podem apresentar genes capazes de regular a expressão gênica na produção de metabolitos secundários na planta. Apesar das relações morfológicas e bioquímicas, o tamanho da folha não influenciou no teor e rendimento do óleo essencial, sendo observados teores médios inferiores a 0,83% para as progênies de *V. curassavica* com maiores diâmetros foliares.

As progênies de meios-irmãos obtidas neste estudo a partir da planta mãe VCUR-503, apresentam metade do conteúdo genético proveniente de qualquer um dos demais 57 acessos de *V. curassavica* do BAG, possíveis doadores de pólen, e que são provenientes de diferentes locais, condições ambientais e que apresentam diferenças genéticas entre si. Tal fato explica a grande variabilidade morfológica e agronômica apresentada pelas progênies. Trabalhos moleculares desenvolvido por Brito et al. (2016) relatam a existência de baixa a média variação genética na coleção de *V. curassavica* analisada por marcadores moleculares ISSR. Entretanto, o estudo foi realizado quando a coleção era composta por apenas 28 acessos.

Além da variabilidade morfológica, observou-se entre as progênies de meios-irmãos uma grande variabilidade de compostos químicos no óleo essencial, principalmente quando observamos o grupo I. Apesar dessa variabilidade, as progênies com maior teor de viridiflorol foram agrupadas juntas, o que permite a seleção de genótipos promissores dentro desse grupo, considerando objetivo do programa de melhoramento. Quando comparado ao estudo desenvolvido por Nizio et al. (2015), realizado com os genótipos parentais *in situ*, houve redução no número de grupos químicos, devido ao direcionamento que foi dado, ao coletar sementes de um acesso que tinha viridiflorol como majoritário. Além disso, um número elevado de compostos não identificados foi observado no perfil químico e isto pode estar relacionado à expressão de novos genes anteriormente ausentes no parental VCUR-503. Os compostos não-identificados podem estar relacionados ao constituinte químico 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil) verificado no óleo essencial da *V. curassavica* por Nizio et al. (2015), por se tratar de um composto majoritário e que pode atuar como precursor para a síntese de novos constituintes. A biossíntese de compostos na planta depende da ação de genes que codificam enzimas capazes de converter compostos químicos no óleo essencial. Devido a presença de ploidia na espécie e de possíveis mecanismos epigenéticos, a expressão de novos genes pode proporcionar a formação de compostos ainda não descritos na literatura (Hoeltgebaum et al. 2017, Silva et al. 2019).

A variabilidade de compostos químicos na planta tem ação direta de enzimas atuantes no metabolismo secundário. Além disso, a origem desses constituintes tem relação direta com os compostos majoritários que servem como precursores para a biossíntese de compostos minoritários numa rota metabólica comum ou participam diretamente da sua produção na planta como o α -pineno, *E*-cariofileno, biciclogermacreno, viridiflorol e globulol (Barros et al. 2009, Ramak et al. 2014). A biossíntese do *E*-cariofileno é iniciada com a formação do geranil difosfato (GPP) sob condensação do isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMA PP). O GPP poderá seguir por duas rotas dependentes da atuação de duas enzimas, a farnesil difosfato sintase e a geranil pirofosfato sintase (Silva et al. 2010, Barros et al. 2009). Essas enzimas serão importantes no direcionamento inicial dos compostos na biossíntese. Se ocorre a atuação da enzima geranil pirofosfato sintase, os compostos derivados do α -terpenil cátion serão sintetizados, mas se ocorrer a atuação da enzima farnesil difosfato sintase, os compostos derivados do E, E-farnesil cátion terão formados preferencialmente (He et al. 2018).

A enzima farnesil difosfato sintase é responsável pela adição de uma molécula de IPP ao GPP. Essa enzima também atuará na formação de moléculas iônicas e intermediárias até a E, E-cátion. O E, E-farnesil cátion pode ser convertido por duas enzimas, a biciclogermacrene sintase e a α -humuleno sintase. A biciclogermacrene sintase será responsável pela ciclização e protonação dessa molécula originando o biciclogermacrene (Dewick 2009, Ramak et al. 2014). Esse por sua vez, passará por protonação com adição de hidrogênios, ciclização e rearranjo da molécula originando o alloaromadendreno. A partir desse ponto, essa molécula pode dar origem ao viridiflorol e outros compostos como ledol e globulol por processo de oxigenação (Ramak et al. 2014).

Os compostos químicos α -humuleno, *E*-cariofileno e germacreno D estão relacionados bioquimicamente, pois ambos utilizam o E, E-farnesil cátion como substrato inicial. As enzimas α -humuleno sintase e germacreno D sintase direcionam as vias para duas rotas diferentes (Ramak et al. 2014). Na primeira, o humulil cátion é sintetizado com ação da enzima α -humuleno sintase, sendo que esse pode originar o o cariofilil cátion e posteriormente o *E*-cariofileno ou formar o α -humuleno. Na segunda, a enzima germacreno D sintase desprotona o germacril cátion gerando o germacreno D (Silva et al. 2008).

Algumas publicações reforçam a relação existente entre esses compostos, dentre eles, o trabalho realizado por Santos et al. (2006) que verificaram baixos teores de α -humuleno (1,0%) com elevação dos teores de *E*-cariofileno (15,7%) e germacreno D (11,2%) no óleo essencial de *Cordia leucomalloides*. Para a *Cordia (Varronia) curassavica* observou-se redução do germacreno D (6,7%) e α -humuleno (1,6%), em relação ao composto *E*-cariofileno (12,4%). Rodrigues et al. (2012) avaliando a composição química do óleo essencial de *V. curassavica*, observaram que o aumento significativo do teor de *E*-cariofileno (25,4%) reduziu consideravelmente os teores de germacreno D (4,5%) e α -humuleno (4,8%).

A alta variabilidade de compostos químicos presentes no óleo essencial de *V. curassavica* influenciou diretamente na atividade biológica desse metabólito sobre organismos patogênicos como o *I. multifiliis*. Embora as progênes testadas no ensaio de atividade antiprotozoária fossem todas pertencentes ao grupo com maior teor de viridiflorol e *E*-cariofileno, houve variação entre elas quanto à toxicidade ao protozoário. Por exemplo, quando comparamos a mortalidade causada pela progênie VCUR-503-91 com a VCUR-503-101, observamos a superioridade da primeira. Embora elas sejam muito parecidas quanto ao teor de viridiflorol (41,80 e 42,41%), a VCUR-503-35 apresenta menos da metade de *E*-cariofileno (4,34%) em relação à VCUR-503-101 (11,39%). Conforme descrito por Nizio et al. (2018), existe um sinergismo entre esses dois compostos que atuam conferindo maior toxicidade do óleo essencial de *V. curassavica* sobre o protozoário *I. multifiliis*. Neste sentido, foi possível confirmar esse sinergismo ao observar a correlação entre a soma do teor de viridiflorol+*E*-cariofileno com a mortalidade (0,88), que foi maior do que a correlação observada para o teor de viridiflorol sozinho com a mortalidade (0,81). Além disso, é possível que alguns outros compostos minoritários podem também atuar de forma sinérgica, como o α -humuleno e o biciclogermacrene. Estes, somados ao viridiflorol, também apresentaram correlação maior (0,83) do que o viridiflorol isoladamente (0,81). Por outro lado, os compostos α -pineno e germacreno D, podem ter atuado de forma antagônica, pois, a correlação do teor de viridiflorol somado a estes compostos, com a mortalidade foi menor do que a correlação do viridiflorol isoladamente. Então, o ideal é que além do óleo essencial conter altos teores de viridiflorol e *E*-cariofileno, tenha baixas concentrações de α -pineno e germacreno D, e se possível ainda, tenha altas concentrações de α -humuleno e biciclogermacrene. Certamente, trabalhos futuros serão necessários para confirmar essas relações.

A atividade antiprotozoária desses compostos, pode estar relacionado aos radicais que eles possuem ligados à estrutura química, que reagem com componentes da membrana celular e a desestabilizam provocando o rompimento dela (Dewick 2009). O viridiflorol possui hidroxila ligada a cadeia carbônica que segundo Buonanno et al. (2019) proporciona um maior

efeito biocida sobre células protozoárias por atuar em estruturas com polaridade, no entanto, o *E*-cariofileno, o α -pineno e o α -humuleno apresentam apenas cadeia carbônica com inexistência de hidroxilas. Devido a isso, acredita-se que o viridiflorol e os demais compostos atuem em mecanismo de ação distintos, sendo os demais compostos responsáveis por interagir com estruturas apolares na membrana plasmática do *I. multifiliis* (Baranovic e Segota 2018, Wang et al. 2018).

5.5. Conclusão

A obtenção de progênies de meios-irmãos de *V. curassavica* proporcionou a melhoria de características fenotípicas importantes como produção de massa seca, teor e rendimento de óleo essencial em alguns indivíduos. Quanto aos compostos químicos de interesse, também foram obtidas progênies superiores em relação ao acesso genitor feminino. Esses indivíduos poderão constituir um grupo de progênies elites para o segundo ciclo de recombinação ou até mesmo para o lançamento de uma cultivar. Dentre as progênies de meios-irmãos que apresentaram superioridade ao parental feminino quanto às características agrônomicas e químicas simultaneamente, pode-se destacar as seguintes VCUR-503-30, VCUR-503-75, VCUR-503-79, VCUR-503-101 e VCUR-503-119.

5.6. Referências Bibliográficas

- Adams RP (2017) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 804p.
- Baldissera MD, Souza CF, Baldisseroto B (2018) *Melaleuca alternifolia* essential oil prevents bioenergetics dysfunction in spleen of silver catfish naturally infected with *Ichthyophthirius multifiliis*. **Microbial Pathogenesis** 123: 47-51.
- Baranović G and Šegota S (2018) Infrared spectroscopy of flavones and flavonols. Reexamination of the hydroxyl and carbonyl vibrations in relation to the interactions of flavonoids with membrane lipids. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** 192: 473–486.
- Barros FMC, Zambarda EO and Heinzmann BM (2009) Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova** 32: 861-867.
- Basting RT, Spindola HM, Souza IMO, Queiroz NCA, Trigo JR, Carvalho JE and Foglio MA (2019) *Pterodon pubescens* and *Cordia verbenacea* association promotes a synergistic response in antinociceptive model and improves the anti-inflammatory results in animal models. **Biomedicine & Pharmacotherapy** 112: 1-10.
- Brito, FA, Nizio DAC, Silva AVC, Diniz LEC, Rabban ARC, Arrigoni-Blank MF, Alvares-Carvalho SV, Figueira GM, Montanari Junior I and Blank AF (2016) Genetic diversity analysis of *Varronia curassavica* Jacq. accessions using ISSR markers. **Genetics and Molecular Research** 15: 1-10.
- Buonanno F, Catalani E, Cervia D, Serafini FP, Picchietti S, Fausto AM, Giorgi S, Lupidi G, Rossi FV, Marcantoni E, Petrelli D and Ortenzi C (2019) Bioactivity and structural properties of novel synthetic analogues of the protozoan toxin climacostol. **Toxins** 11.

- Cararo LM, Sado RY, Muelbert B and De Borba MR (2017) Evaluation of oregano essential oil as a growth promoter and resistance stimulator against *Ichthyophthirius multifiliis* (Protozoa, Ciliophora) in silver catfish juveniles, *Rhamdia* sp. (Siluriformes, Heptapteridae). **Semina:Ciencias Agrarias** **38**: 3871–3885.
- Carvalho VR de A, Silva MK do N, Aguiar JJS, Bitu V de CN, Costa JGM da, Ribeiro-Filho J, Coutinho HDM, Pinho AI and Fagner Ferreira Matias E (2017) Antibiotic-Modifying Activity and Chemical Profile of the Essential Oil from the Leaves of *Cordia verbenacea* DC. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants** **20**: 337–345.
- Chandra M, Kushwaha S and Sangwan NS (2020) Comparative transcriptome analysis to identify putative genes related to trichome development in *Ocimum* species. **Molecular Biology Reports** **47**: 6587–6598.
- Dewick, P.M (2009) **Medicinal Natural Products Medicinal**. 137–184p.
- Ehlert PAD, Blank AF, Arrigoni-Blank MF, Paula JWA, Campos DA and Alviano CS (2006) Hydrodistillation time for essential oil extraction of seven medicinal plant species. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** **8**: 79–80.
- He SM, Wang X, Yang SC, Dong Y, Zhao QM, Yang JL, Cong K, Zhang JJ, Zhang GH, Wang Y and Fan W (2018) De novo transcriptome characterization of *rhodomyrtus tomentosa* leaves and identification of genes involved in α/β -pinene and β -caryophyllene biosynthesis. **Front in Plant Science** **9**: 1231.
- Hoeltgebaum MP; Londoño DMM; Lando AP and Reis MS (2017) Reproductive strategy of the polyploid species *Varronia curassavica* Jacq. in restinga environment. **Journal of Heredity** **108**: 424–430.
- Kwan PP, Banerjee S, Shariff M and Yusoff FM (2020) Persistence of malachite green and leucomalachite green in red tilapia (*Oreochromis hybrid*) exposed to different treatment regimens. **Food Control** **108**: 106866.
- Liang JH, Fu YW, Zhang QZ, Xu DH, Wang B and Lin DJ (2015) Identification and effect of two flavonoids from root bark of *morus alba* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** **63**: 1452–1459.
- Lin DJ, Hua YN, Zhang QZ, Xu DH, Fu YW, Liu YM and Zhou SY (2016) Evaluation of medicated feeds with antiparasitical and immune-enhanced Chinese herbal medicines against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **Parasitology Research** **115**: 2473–2483.
- Matthews RA (2005) *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. **Advances in Parasitology** **59**: 159–241.
- Mendes ADR, Nascimento CR, Queiroz TB, Pinto VB and Martins ER (2015) Ecogeography populations of *Cordia* (*Varronia curassavica*) in North and Jequitinhonha Valley in Minas Gerais, Brazil. **Ciencia Rural** **45**: 418–424.
- Miller JS and Gottschling M (2007) Generic classification in the Cordiaceae (Boraginales): Resurrection of the genus *Varronia* P. Br. **Taxon** **56**: 163–169.

- Nizio DAC, Brito F de A, Sampaio TS, Melo J de O, Silva FLS da, Gagliardi PR, Arrigoni-Blank M de F, Anjos CS dos, Alves PB, Wisniewski Junior A and Blank AF (2015) Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products** **76**: 437–448.
- Nizio DAC, Fujimoto RY, Maria AN, Carneiro PCF, França CCS, da Costa Sousa N, de Andrade Brito F, Sampaio TS, de Fátima Arrigoni-Blank M and Blank AF (2018) Essential oils of *Varronia curassavica* accessions have different activity against white spot disease in freshwater fish. **Parasitology Research** **117**: 97–105.
- Oliveira BMS, Blank AF, Nizio DA de C, Arrigoni-Blank M de F, Bacci L, Nascimento LF de A and de SÁ FILHO JCF (2020) Morpho-agronomic characterization of *Varronia curassavica* germplasm conserved “Ex situ.” **Bioscience Journal** **36**: 353–363.
- Paulus D, Valmorbida R, Toffoli E, Nava GA and Paulus E (2013) Content and constituents of essential oil of *Aloysia triphylla* in different row spaces and harvest times. **Revista Ceres** **60**: 372–379.
- Perini JA, Angeli-Gamba T, Alessandra-Perini J, Ferreira LC, Nasciutti LE and Machado DE (2015) Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: A histopathological, immunohistochemical and biochemical study. **BMC Complementary and Alternative Medicine** **15**: 1–8.
- Ramak P, Osaloo SK., Sharifi M, Ebrahimzadeh H and Behmanesh M (2014) Biosynthesis, regulation and properties of plant monoterpenoids. **Journal of Medicinal Plant Research** **8**: 983-991.
- Rodrigues Fabiola F.G., Oliveira LGS, Rodrigues Fábio F.G., Saraiva ME, Almeida SCX, Cabral MES, Campos AR and Costa JGM (2012) Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. **Pharmacognosy Research** **4**: 161–165.
- Sampaio TS, Nizio DA de C, White LAS, Melo J de O, Almeida CS, Alves MF, Gagliardi PR, Arrigoni-Blank M de F, Wisniewski A, Sobral MEG and Blank AF (2016) Chemical diversity of a wild population of *Myrcia ovata* Cambessedes and antifungal activity against *Fusarium solani*. **Industrial Crops and Products** **86**: 196–209.
- Santos RP, Nunes EP, Nascimento RF, Santiago GM, Menezes GHA, Silveira ER and Pessoa ODL (2006) Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society** **17**: 1027-1030.
- Silva CM, Bolzan AA, Malimann CA, Pozzatti P, Alves SH and Heinzmann BM (2008) Sesquiterpenoids of *Senecio bonoriensis* Hook & Arn., Asteraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** **20**: 87-92.
- Silva KP, de Carvalho Santos TA, Moutinho BL, da Silva RS, dos Santos Pinto V, Blank AF, Corrêa CB, Scher R and Fernandes RPM (2019) Using *Varronia curassavica* (Cordiaceae) essential oil for the biocontrol of *Phytomonas serpens*. **Industrial Crops and Products** **139**: 111523.

- Van Den Dool H and Kratz PD (1963) A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography 1**: 463-471.
- Ventrella MC and Marinho CR (2008) Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) leaves. **Revista Brasileira de Botanica 31**: 457–467.
- Wang T yang, Li Q and Bi K shun (2018) Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. Shenyang Pharmaceutical University, p. 12–23.
- Weeks A, Baird KE and McMullen CK (2010) Origin and evolution of endemic Galápagos *Varronia species* (Cordiaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution 57**: 948–954.
- Xu DH, Shoemaker CA and Klesius PH (2012) *Ichthyophthirius multifiliis* as a potential vector of *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish. **FEMS Microbiology Letters 329**: 160–167.

Tabela 1. Largura (LF) e comprimento (CF) da folha, comprimento do pecíolo (CP), área foliar (AF), altura da planta (AL), diâmetro do caule (DC), comprimento do internódio (CI) e diâmetro de copa (DCO) de 88 progênes de meios-irmãos e parental de *Varronia curassavica*.

Genótipos	LF		CF		CP		AF		AL	DC	CI	DCO	
	(cm)		(cm)		(cm)		(cm²)		(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	
VCU-503	2,84	a3	9,60	a5	0,40	a3	9,46	a1	168,00	3,10	5,40	a5	165,00
VCU-503-01	3,20	a7	9,00	a3	0,30	a2	15,42	a11	152,00	2,20	6,00	a6	162,00
VCU-503-02	3,10	a6	9,20	a4	0,40	a3	15,01	a8	147,00	2,30	6,20	a6	170,00
VCU-503-03	3,50	a10	10,00	a5	0,70	a6	17,79	a19	216,00	3,10	5,30	a5	281,00
VCU-503-04	6,10	a31	14,20	a15	1,20	a11	25,48	a54	162,00	2,90	5,50	a5	158,00
VCU-503-05	5,50	a27	10,50	a7	1,00	a9	17,33	a16	164,00	2,60	6,00	a6	198,00
VCU-503-06	3,90	a15	10,10	a5	1,10	a10	19,52	a25	125,00	2,00	5,00	a4	148,00
VCU-503-07	6,00	a30	13,00	a13	1,10	a10	37,45	a81	239,00	3,00	4,00	a3	280,00
VCU-503-10	2,50	a1	9,20	a3	0,20	a1	16,67	a14	176,00	2,80	5,60	a5	156,00
VCU-503-11	4,00	a16	10,00	a5	1,00	a9	28,69	a66	192,00	2,20	7,00	a7	210,00
VCU-503-12	4,70	a23	9,20	a4	0,70	a6	26,90	a62	180,00	3,20	7,00	a7	183,00
VCU-503-13	3,90	a15	20,00	a17	0,60	a5	22,61	a43	220,00	2,60	4,70	a4	248,00
VCU-503-14	5,00	a26	10,00	a5	0,98	a9	30,02	a70	251,00	3,00	4,50	a4	291,00
VCU-503-15	4,60	a22	10,50	a6	0,70	a6	37,10	a79	220,00	3,20	8,50	a10	210,00
VCU-503-23	5,00	a26	14,20	a15	1,00	a9	18,93	a23	191,00	1,70	8,90	a10	205,00
VCU-503-24	4,00	a16	10,00	a5	0,70	a6	18,47	a22	109,00	2,50	2,40	a1	129,00
VCU-503-25	4,00	a16	10,30	a6	1,00	a9	22,96	a46	191,00	2,70	6,20	a6	180,00
VCU-503-26	4,50	a21	10,30	a6	1,00	a9	28,78	a67	181,00	3,10	8,00	a9	205,00
VCU-503-28	4,10	a17	8,90	a3	0,60	a5	12,92	a4	177,00	2,30	9,20	a10	210,00
VCU-503-30	3,80	a14	10,00	a5	0,80	a7	19,72	a26	190,00	3,30	4,10	a3	210,00
VCU-503-31	6,00	a30	14,00	a15	1,00	a9	35,06	a76	205,00	3,30	7,10	a7	231,00
VCU-503-32	4,00	a16	11,10	a8	0,70	a6	26,83	a61	176,00	2,60	4,50	a4	193,00
VCU-503-34	2,80	a2	7,70	a1	0,40	a3	20,13	a30	252,00	3,20	6,00	a6	298,00
VCU-503-35	3,90	a15	9,50	a4	1,00	a9	27,42	a64	207,00	2,60	5,20	a5	198,00
VCU-503-36	4,90	a25	12,50	a11	0,60	a5	12,14	a3	198,00	3,60	6,00	a6	240,00
VCU-503-38	5,50	a27	12,30	a11	1,10	a10	23,55	a48	162,00	4,30	5,10	a5	166,00
VCU-503-40	5,50	a27	13,00	a13	0,60	a5	25,24	a53	198,00	3,30	5,00	a4	172,00
VCU-503-42	4,00	a16	10,00	a5	1,30	a13	14,65	a6	145,00	2,99	3,20	a2	173,00
VCU-503-43	4,70	a23	15,00	a16	0,90	a8	22,66	a44	198,00	3,10	7,50	a8	251,00
VCU-503-44	3,60	a11	10,30	a5	0,30	a2	25,10	a51	188,00	3,80	4,30	a4	186,00
VCU-503-45	3,10	a6	8,90	a3	0,80	a7	15,59	a12	152,00	2,20	3,50	a2	176,00
VCU-503-46	3,90	a15	9,50	a4	0,50	a4	17,58	a18	126,00	3,00	3,00	a2	150,00
VCU-503-47	3,80	a14	10,70	a7	0,50	a4	25,61	a55	179,00	3,60	4,50	a4	220,00
VCU-503-48	4,30	a19	12,00	a10	0,70	a6	31,64	a72	230,00	3,20	8,30	a10	250,00
VCU-503-49	3,00	a5	9,20	a3	0,70	a6	17,38	a17	210,00	3,80	6,80	a7	230,00
VCU-503-50	4,30	a19	12,2	a11	1,00	a9	26,18	a58	142,00	2,30	4,10	a3	107,00
VCU-503-51	3,50	a10	9,80	a5	0,70	a6	26,18	a58	195,00	2,50	5,00	a4	210,00
VCU-503-52	4,10	a17	9,40	a4	0,70	a6	14,59	a5	196,00	3,90	4,50	a4	230,00
VCU-503-53	3,90	a15	10,50	a6	1,00	a9	21,76	a40	157,00	3,00	3,90	a3	188,00
VCU-503-54	3,80	a14	11,80	a9	0,70	a6	19,89	a29	199,00	3,70	7,40	a8	220,00
VCU-503-55	6,10	a31	13,20	a13	0,70	a6	30,08	a71	198,00	3,50	6,70	a7	172,00
VCU-503-56	4,10	a17	11,20	a8	0,60	a5	25,81	a56	212,00	3,70	6,00	a6	200,00
VCU-503-57	3,20	a7	8,10	a2	0,40	a3	10,80	a2	167,00	4,20	4,00	a3	192,00
VCU-503-58	3,70	a12	9,00	a3	0,50	a4	21,21	a38	198,00	3,20	5,50	a5	250,00
VCU-503-60	4,40	a21	10,50	a6	1,20	a11	14,86	a7	199,00	2,40	5,00	a4	220,00
VCU-503-61	3,40	a9	7,80	a1	0,50	a4	22,82	a45	210,00	2,90	8,00	a9	262,00
VCU-503-62	4,50	a21	12,20	a11	1,20	a12	20,26	a31	110,00	1,40	4,90	a4	100,00
VCU-503-65	3,20	a7	8,70	a3	0,80	a7	20,89	a36	207,00	3,20	3,80	a3	198,00
VCU-503-66	3,70	a12	10,00	a5	0,60	a5	15,62	a12	166,00	3,20	6,40	a3	156,00
VCU-503-67	5,00	a26	12,80	a12	1,30	a13	31,81	a73	187,00	2,50	5,10	a5	210,00
VCU-503-69	3,30	a8	10,20	a6	0,80	a7	19,49	a24	122,00	3,20	3,30	a2	181,00
VCU-503-70	3,40	a9	11,00	a8	0,90	a8	32,15	a74	198,00	2,70	8,00	a9	210,00
VCU-503-71	3,00	a5	9,00	a3	0,50	a4	26,61	a60	202,00	4,70	4,50	a4	240,00
VCU-503-72	3,20	a7	10,90	a7	0,90	a8	20,49	a33	130,00	3,10	4,50	a4	170,00
VCU-503-74	3,60	a11	9,30	a3	0,90	a8	19,75	a27	138,00	2,70	6,40	a6	172,00
VCU-503-75	4,10	a17	10,20	a6	0,60	a5	20,68	a34	164,00	3,70	6,10	a6	187,00
VCU-503-77	3,20	a7	8,20	a2	0,60	a5	15,70	a12	210,00	3,20	4,20	a3	198,00
VCU-503-78	4,60	a22	9,00	a3	1,00	a9	38,27	a82	200,00	3,40	4,80	a4	197,00
VCU-503-79	3,90	a15	10,20	a5	1,00	a9	21,88	a41	143,00	3,10	7,20	a7	195,00
VCU-503-81	4,00	a16	14,00	a15	0,30	a2	19,48	a24	189,00	3,10	7,50	a8	198,00
VCU-503-82	4,00	a16	10,10	a5	0,50	a4	25,25	a53	149,00	2,80	4,30	a3	136,00
VCU-503-84	5,60	a28	14,10	a15	1,10	a10	29,58	a69	210,00	1,90	4,50	a4	240,00
VCU-503-86	5,00	a26	13,20	a13	1,10	a10	32,59	a75	94,00	3,20	5,30	a5	211,00
VCU-503-88	2,90	a3	7,80	a1	0,30	a2	15,69	a13	134,00	3,20	5,50	a5	112,00
VCU-503-89	3,90	a16	10,60	a6	0,50	a4	19,77	a28	166,00	3,50	4,60	a4	185,00
VCU-503-90	3,70	a12	15,00	a16	0,50	a4	35,19	a77	193,00	3,20	6,00	a6	220,00
VCU-503-91	4,10	a17	10,00	a5	0,50	a4	23,24	a47	210,00	3,55	4,80	a4	251,00

VCU-503-92	3,40	a9	11,90	a10	0,80	a7	15,38	a10	107,00	4,10	4,30	a3	125,00
VCU-503-93	5,00	a26	12,30	a11	0,80	a7	27,09	a63	139,00	3,30	5,00	a4	170,00
VCU-503-94	4,60	a22	13,20	a13	0,90	a8	21,05	a37	120,00	2,05	5,60	a5	94,10
VCU-503-95	4,00	a16	12,50	a12	1,00	a9	17,99	a21	135,00	2,70	5,10	a5	137,00
VCU-503-97	4,00	a16	11,50	a9	0,70	a6	27,95	a65	121,00	3,80	3,90	a3	140,00
VCU-503-98	3,10	a6	8,10	a2	0,70	a6	19,54	a25	177,00	2,50	3,20	a2	192,00
VCU-503-99	3,80	a13	10,60	a7	1,00	a9	29,29	a68	182,00	2,60	5,00	a5	148,00
VCU-503-101	3,60	a11	9,20	a3	0,80	a7	21,37	a39	179,00	3,40	4,20	a3	102,00
VCU-503-102	3,30	a8	9,50	a4	0,80	a7	25,24	a52	135,00	2,50	3,20	a2	120,00
VCU-503-103	2,94	a4	10,76	a7	0,76	a7	17,85	a20	128,76	2,30	3,20	a2	130,89
VCU-503-104	4,20	a18	11,10	a8	1,10	a10	37,27	a80	134,00	3,40	5,50	a5	160,00
VCU-503-106	5,80	a29	13,50	a14	1,20	a12	25,91	a57	190,00	3,90	4,90	a4	170,00
VCU-503-107	3,60	a11	10,30	a5	0,40	a3	20,83	a35	157,00	2,50	4,20	a3	192,00
VCU-503-108	4,40	a20	10,60	a7	1,00	a9	24,54	a50	160,00	2,80	4,00	a5	190,00
VCU-503-109	4,90	a24	15,00	a16	1,40	a14	23,97	a49	152,00	2,80	5,20	a3	169,00
VCU-503-110	4,70	a23	12,70	a12	1,10	a10	36,73	a78	138,00	2,35	5,50	a5	170,00
VCU-503-111	4,40	a20	12,20	a11	0,30	a2	19,81	a59	169,00	3,30	8,00	a9	196,00
VCU-503-112	3,60	a11	10,50	a6	0,98	a9	26,57	a59	149,00	2,70	5,50	a5	160,00
VCU-503-115	3,90	a15	10,30	a6	0,30	a2	20,47	a32	195,00	2,50	6,90	a7	200,00
VCU-503-116	4,00	a16	11,80	a10	0,40	a3	22,35	a42	167,00	3,00	6,80	a7	194,00
VCU-503-118	4,90	a24	13,10	a13	0,60	a5	16,72	a15	198,00	2,50	5,60	a5	188,00
VCU-503-119	4,20	a18	11,00	a8	0,80	a7	15,24	a9	190,00	3,10	5,30	a5	189,00
Média±SD			10,96±2,03		0,77±0,28		22,85±6,49	74,10±33,78	2,99±0,59	5,34±1,45		189,00±45,50	

Médias seguidas de mesma letra e número na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

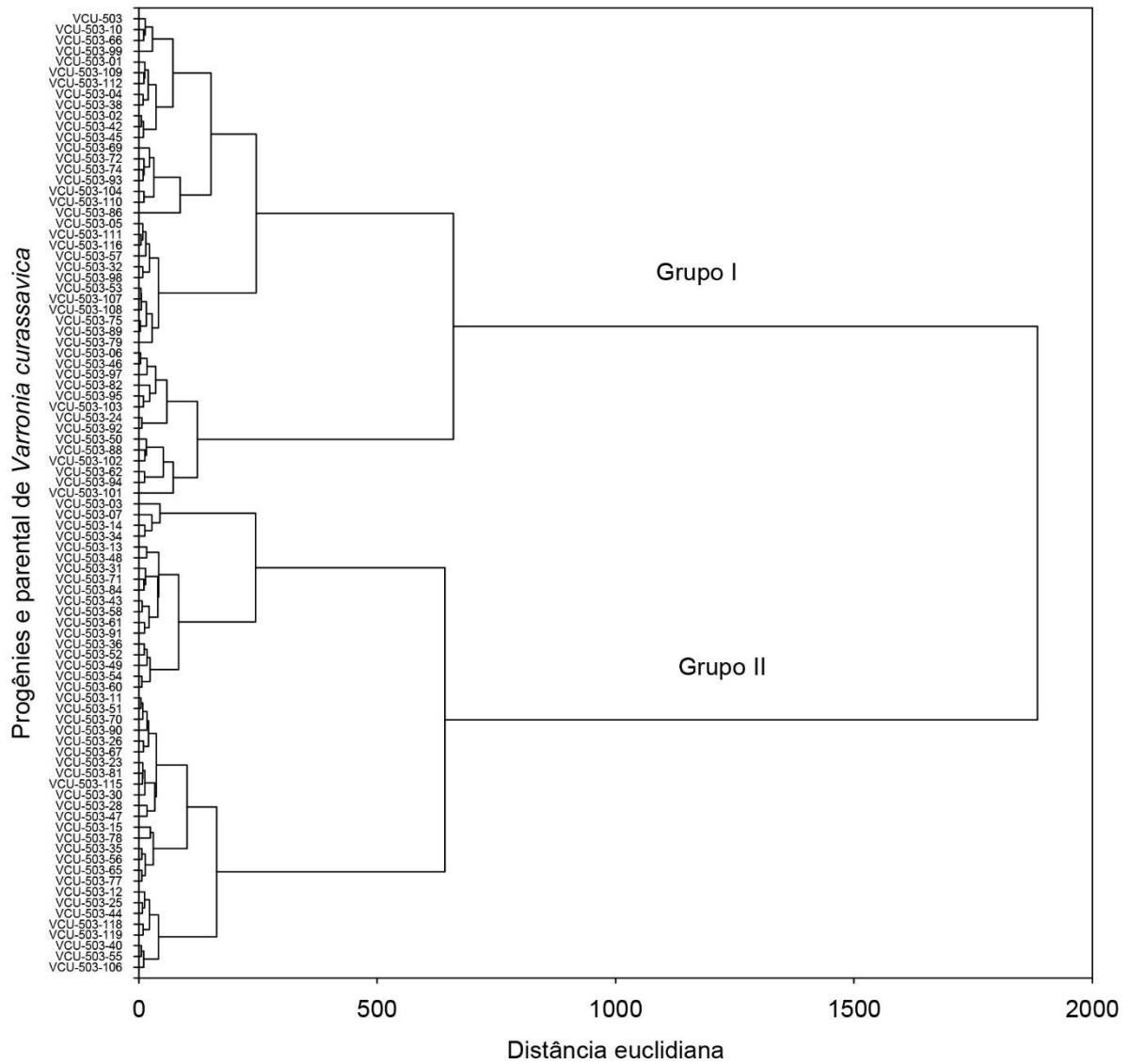


Figura 1. Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre 88 progênies de meios-irmãos e parental de *Varronia curassavica* do programa de melhoramento da UFS para as características morfológicas.

Tabela 2. Média $\pm$ desvio padrão para altura de planta, diâmetro de copa, largura e comprimento da folha, comprimento do pecíolo, comprimento do internódio, diâmetro do caule e área foliar de 88 progênie de meios-irmãos de *Varronia curassavica*.

Descritores	Grupo I	Grupo II
Altura da planta - AL (cm)	146,57 $\pm$ 21,56	202,25 $\pm$ 16,82
Diâmetro da copa – DCO (cm)	160,58 $\pm$ 29,44	219,59 $\pm$ 31,94
Comprimento do pecíolo - CP (cm)	0,79 $\pm$ 0,30	0,75 $\pm$ 0,25
Comprimento da folha - CF (cm)	10,73 $\pm$ 1,58	11,20 $\pm$ 2,41
Largura da folha - LF (cm)	3,93 $\pm$ 0,76	4,26 $\pm$ 0,85
Comprimento do internódio - CI (cm)	4,87 $\pm$ 1,21	5,96 $\pm$ 1,49
Diâmetro do caule - DC (cm)	2,98 $\pm$ 0,59	3,09 $\pm$ 0,58
Área foliar - AF (cm ²)	21,35 $\pm$ 5,87	24,38 $\pm$ 6,87

Grupo I = 44 progênie de meios-irmãos+parental, Grupo II = 44 progênie de meios-irmãos.

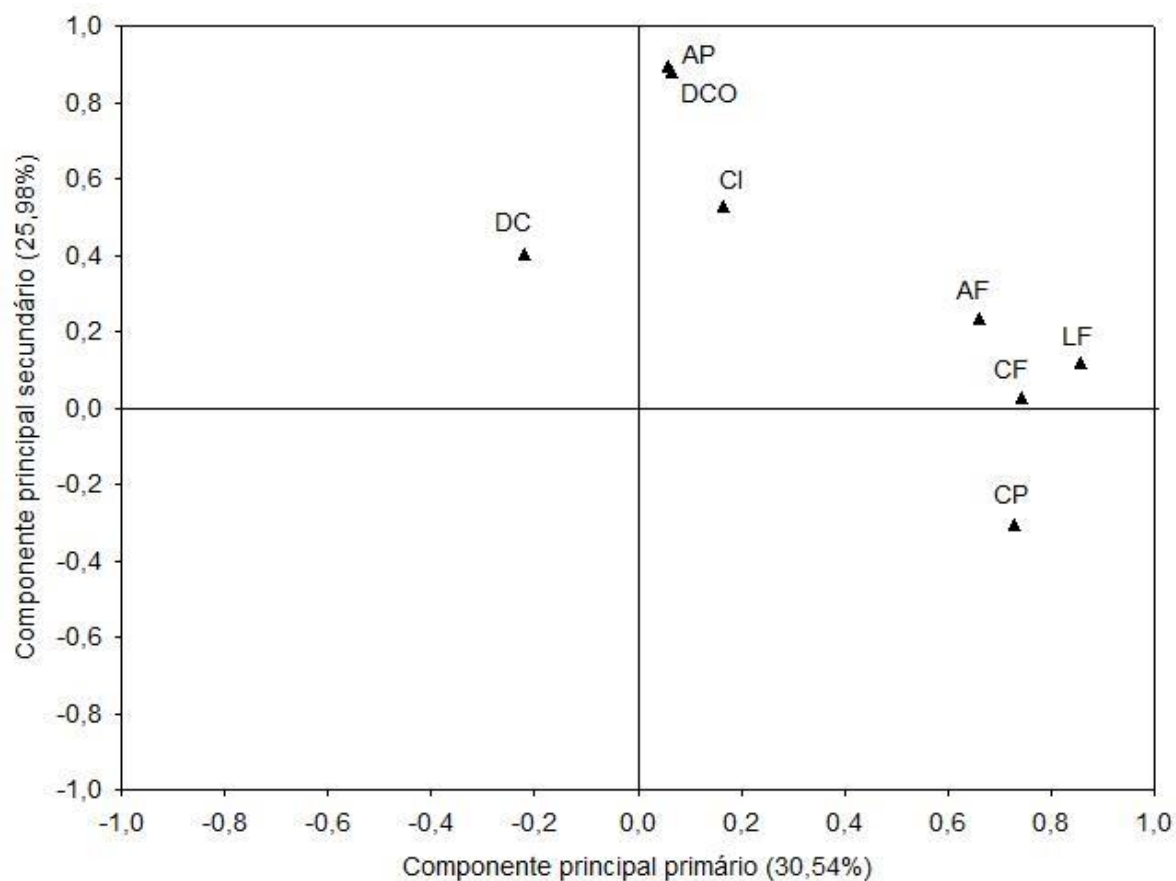


Figura 2. Distribuição das variáveis morfológicas do parental e progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP). AL: Altura de planta (cm); DCO: Diâmetro da copa (cm); CP: Comprimento do pecíolo (cm); CF: Comprimento da folha (cm); LF: Largura da folha (cm); CI: Comprimento do internódio (cm); DC: Diâmetro do caule (cm); AF: Área foliar (cm²).

Tabela 3. Massa seca de folhas (MSF), Teor (TOE) e Rendimento (ROE) de óleo essencial das 72 progênes de meios-irmãos e parental do programa de melhoramento de *Varronia curassavica* da UFS.

Genótipos	MSF (g)	TOE (%)	ROE (mL.planta ⁻¹)
VCUR-503	246,30	1,07 g	2,58 f
VCUR-503-01	294,00	1,33 e	4,20 c
VCUR-503-02	156,40	1,62 d	2,68 f
VCUR-503-03	278,40	1,09 f	3,18 e
VCUR-503-04	202,40	1,34 e	2,70 f
VCUR-503-05	120,00	0,86 h	1,03 j
VCUR-503-06	430,00	0,76 h	3,28 e
VCUR-503-11	231,10	1,38 e	3,30 e
VCUR-503-12	231,50	1,14 f	2,65 f
VCUR-503-13	201,90	1,21 f	2,50 f
VCUR-503-14	120,12	1,24 f	1,19 j
VCUR-503-15	431,30	0,86 h	3,70 d
VCUR-503-23	180,10	1,00 g	1,71 h
VCUR-503-25	295,70	1,07 g	3,10 e
VCUR-503-26	222,00	0,76 h	1,80 h
VCUR-503-30	307,00	1,95 b	5,99 a
VCUR-503-31	213,60	0,76 h	1,62 h
VCUR-503-32	139,80	1,95 b	2,80 f
VCUR-503-34	241,80	1,28 e	3,34 e
VCUR-503-35	280,00	1,00 g	2,67 f
VCUR-503-36	126,00	1,14 f	1,44 i
VCUR-503-38	182,30	1,19 f	2,17 g
VCUR-503-40	291,30	1,24 f	3,88 d
VCUR-503-42	555,50	1,14 f	6,35 a
VCUR-503-43	313,50	1,19 f	3,88 d
VCUR-503-45	310,20	1,34 e	3,99 d
VCUR-503-47	118,90	1,48 e	1,70 h
VCUR-503-48	356,40	0,81 h	3,05 e
VCUR-503-49	244,80	0,95 g	2,10 g
VCUR-503-50	402,00	0,81 h	3,06 e
VCUR-503-51	184,00	1,24 f	2,19 g
VCUR-503-52	125,30	1,14 f	1,43 i
VCUR-503-53	173,60	1,57 d	2,65 f
VCUR-503-54	105,20	1,81 c	1,90 h
VCUR-503-56	299,10	0,86 h	2,56 f
VCUR-503-57	168,50	0,91 g	1,52 i
VCUR-503-58	610,70	0,67 h	3,49 e
VCUR-503-60	272,40	1,38 e	3,89 d
VCUR-503-61	216,00	1,33 e	2,68 f
VCUR-503-65	271,80	1,38 e	3,75 d
VCUR-503-66	125,00	1,76 c	2,26 g
VCUR-503-67	105,00	1,43 e	1,50 i
VCUR-503-69	346,60	0,91 g	3,03 e
VCUR-503-70	128,60	1,09 f	1,47 i
VCUR-503-71	182,60	0,89 g	1,70 h
VCUR-503-72	234,00	1,09 f	2,56 f
VCUR-503-74	255,60	1,48 e	3,77 d
VCUR-503-75	211,00	2,05 b	4,32 c
VCUR-503-77	217,80	1,23 f	2,90 f
VCUR-503-78	143,60	1,24 f	1,91 h
VCUR-503-79	203,30	2,14 b	4,17 c
VCUR-503-81	157,00	1,23 f	1,79 h
VCUR-503-82	198,00	1,19 f	2,26 g
VCUR-503-84	177,70	1,33 e	2,54 f
VCUR-503-86	102,60	1,14 f	1,17 j
VCUR-503-88	306,10	1,14 f	3,50 e
VCUR-503-89	262,30	1,33 e	3,75 d
VCUR-503-90	142,10	1,71 c	2,44 g
VCUR-503-91	372,70	1,19 f	4,26 c
VCUR-503-92	125,90	1,52 e	1,92 h
VCUR-503-94	267,20	0,86 h	2,29 g
VCUR-503-95	271,60	1,38 e	3,75 d
VCUR-503-99	153,10	1,00 g	1,46 i
VCUR-503-101	206,00	2,38 a	4,91 b
VCUR-503-102	170,30	2,34 a	4,06 c
VCUR-503-104	206,50	0,90 g	1,77 h
VCUR-503-106	116,10	1,38 e	1,49 i

VCUR-503-111	248,60	2,14 b	5,20 b
VCUR-503-112	140,10	2,24 a	3,07 e
VCUR-503-115	221,20	1,43 e	3,16 e
VCUR-503-116	113,60	2,00 b	2,27 g
VCUR-503-118	299,10	0,91 g	2,70 f
VCUR-503-119	298,30	1,04 g	2,98 e
Média população	230,58±99,57	1,29±0,40	2,82±1,10
CV(%)	-	8,86	8,17

Médias seguidas de mesma letra e número na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$)

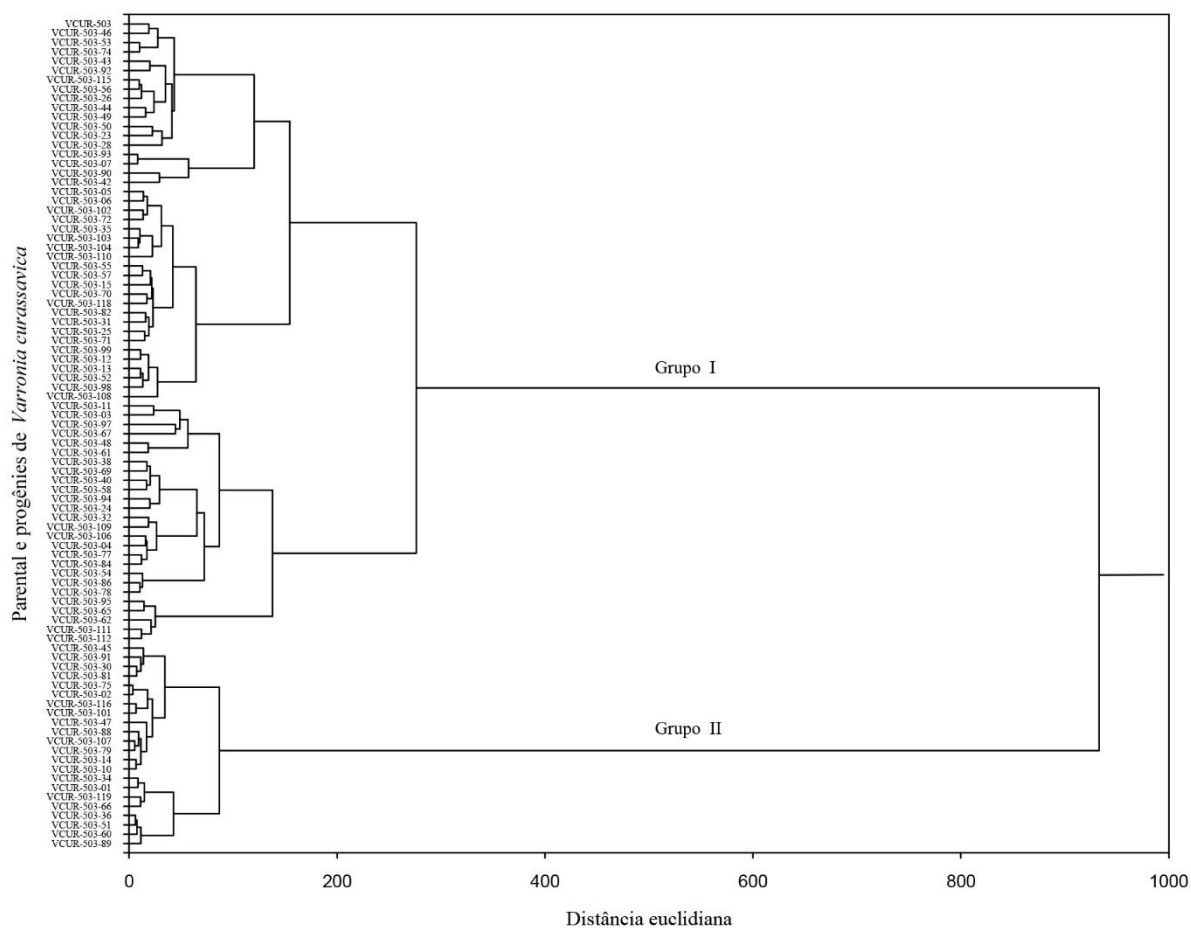


Figura 3. Dendrograma bidimensional representando a similaridade do parental e de 88 progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* para a composição química do óleo essencial.

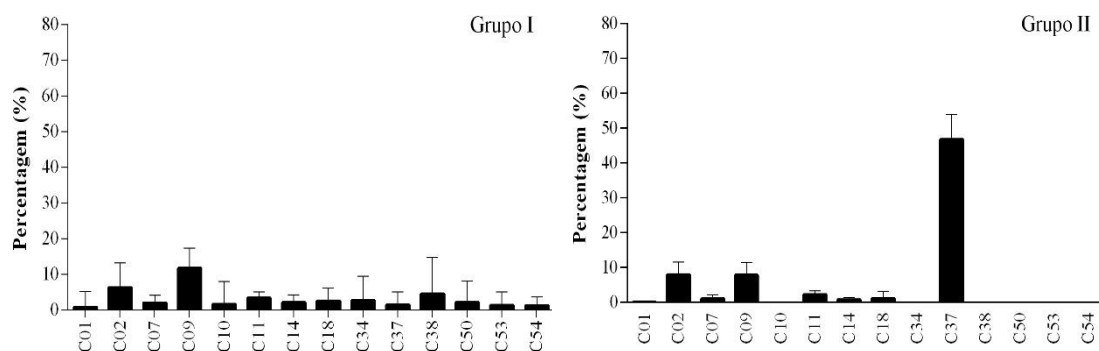


Figura 4. Média dos constituintes do óleo essencial para os grupos I e II do parental e suas progênes de meios-irmãos de *Varronia curassavica*. (C01) triciclono, (C02) α -pineno, (C07) δ -elemeno, (C09) (E)-cariofileno, (C10) γ -elemeno, (C11) α -humuleno, (C14) germacreno, (C18) biciclogermacreno, (C34) globulol, (C37) viridiflorol, (C38) 7-ciclododecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil), (C50) ar-turmerona, (C53) 218M+ 83(100); 105(93) e (C54) 220M+ 67(69); 91(60); 93(52); 109(100); 120(65).

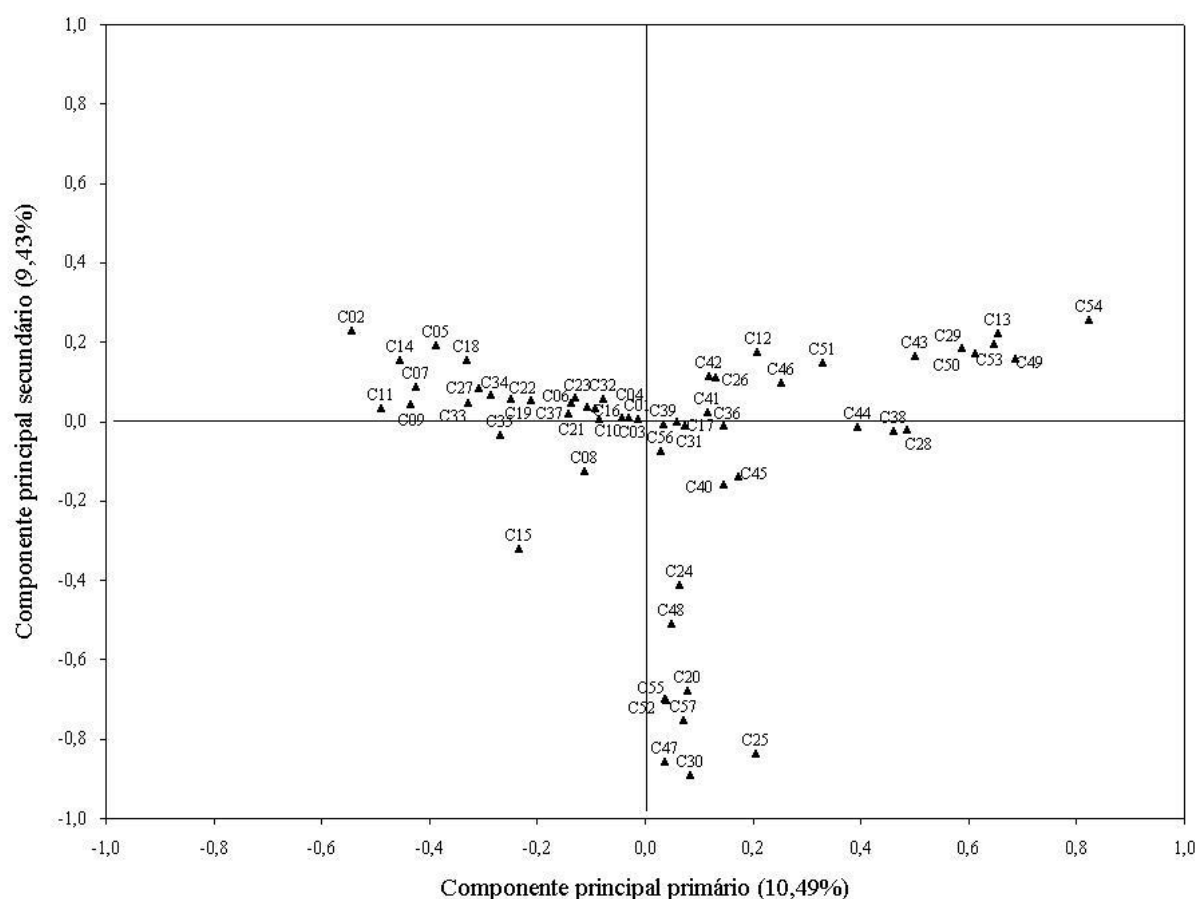


Figura 5. Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial do parental e progênes de meios-irmãos de *Varronia curassavica* em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP). (C01) triciclono, (C02) α -pineno, (C03) canfeno, (C04) sabineno, (C05) β -pineno, (C06) terpinen-4-ol, (C07) δ -elemeno, (C08) α -gurjuneno, (C09) *E*-cariofileno, (C10) γ -elemeno, (C11) α -humuleno, (C12) 204M+ 105(54); 161(100), (C13) α -zingibereno, (C14) germacreno D, (C15) β -selineno, (C16) 204M+ 91(50); 93(90); 105(100); 107(53); 121(83); 161(66), (C17) 204M+ 91(50); 93(92); 105(81); 107(61); 119(52); 121(100); 161(51), (C18) biciclogermacreno, (C19) δ -amorfenno, (C20) 222M+ 41(65); 55(50); 69(57); 81(100); 93(67); 121(60); 161(66), (C21) cis-calameneno, (C22) trans-calameneno, (C23) 202M+ 159(100), (C24) 222M+ 41(53); 81(100); 93(59); 105(52); 121(64); 161(83), (C25) 222M+ 41(72); 55(56); 67(61); 69(68); 81(100); 93(80); 95(51); 109(79), (C26) δ -cadineno, (C27) β -cadineno, (C28) 220M+ 41(80); 55(50); 67(52); 69(65); 79(55); 81(99); 93(83); 95(58); 107(100); 108(61); 150(63); 220(64), (C29) ar-turmerol, (C30) 222M+ 81(64); 105(62); 161(100), (C31) 204M+ 81(65); 105(64); 161(100), (C32) 220M+ 41(67); 43(92); 91(83); 93(55); 105(74); 119(65); 131(70); 159(100); 205(62), (C33) espatulenol, (C34) globulol, (C35) óxido de cariofileno, (C36) guaiol, (C37) viridiflorol, (C38) 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil), (C39) 204M+ 43(63); 81(73); 105(72); 161(100); 189(53); 204(75), (C40) 220M+ 42(100); 159(84); 162(77), (C41) 220M+ 41(100); 55(65); 67(85); 79(60); 81(56); 82(54); 91(82); 93(64); 95(81); 105(54); 107(52); 109(62); 119(60); 136(61), (C42) 202M+ 41(53); 43(69) 55(56); 67(87); 77(64); 79(78); 91(96); 93(100); 105(55); 109(80); 145(54); 187(62); 202(54), (C43) 220M+ 42(63); 67(51); 79(52); 91(68); 93(63); 119(100); 120(74), (C44) 220M+ 41(57); 69(68); 95(50); 149(82); 152(46); 177(52); 192(100), (C45) epi-a-cadinol, (C46) 220M+ 43(100); 67(60); 77(54); 79(63); 91(69); 93(77); 109(54); 120(98), (C47) epi-a-muurolool, (C48) δ -cadinol, (C49) 202M+ 69(75); 91(74); 93(84); 95(100); 109(63); 132(79); 202(57), (C50) ar-turmerona, (C51) 202M+ 67(60), 69(99); 91(69); 93(71); 95(100); 109(71); 132(59); 202(71), (C52) α -cadinol, (C53) 218M+ 83(100); 105(93); 120(63), (C54) 220M+ 67(69); 91(60); 93(52); 109(100); 120(65), (C55) 5-neo-cedranol, (C56) 204M+ 81(61); 105(72); 161(100), (C57) 2E,6E-metil farnesoato.

Tabela 5. Teor de (E)-cariofileno e viridiflorol de 88 progênies de meios-irmãos e parental de *Varronia curassavica*.

Genótipo	E-cariofileno (%)		viridiflorol (%)	
VCUR-503	10,91	a16	19,42	a15
VCUR-503-01	8,03	a10	53,14	a32
VCUR-503-02	5,13	a5	44,64	a24
VCUR-503-03	10,44	a15	2,82	a7
VCUR-503-04	4,74	a5	0,00	a1
VCUR-503-05	20,46	a26	0,00	a1
VCUR-503-06	23,61	a30	0,00	a1
VCUR-503-07	14,66	a21	0,00	a1
VCUR-503-10	6,71	a8	45,29	a25
VCUR-503-11	3,68	a3	0,00	a1
VCUR-503-12	15,07	a22	0,00	a1
VCUR-503-13	8,33	a11	0,45	a3
VCUR-503-14	8,66	a12	48,91	a30
VCUR-503-15	19,04	a24	0,00	a1
VCUR-503-23	19,84	a25	6,27	a10
VCUR-503-24	7,78	a10	0,00	a1
VCUR-503-25	16,12	a23	0,61	a3
VCUR-503-26	14,64	a21	0,75	a4
VCUR-503-28	10,02	a15	2,04	a6
VCUR-503-30	14,90	a21	38,64	a18
VCUR-503-31	19,84	a25	0,73	a4
VCUR-503-32	11,61	a17	0,00	a1
VCUR-503-34	6,61	a8	58,56	a33
VCUR-503-35	19,17	a24	0,00	a1
VCUR-503-36	8,73	a12	43,44	a22
VCUR-503-38	10,06	a15	0,00	a1
VCUR-503-40	8,21	a11	0,00	a1
VCUR-503-42	0,00	a1	0,00	a1
VCUR-503-43	13,46	a19	0,00	a1
VCUR-503-44	6,92	a8	0,62	a3
VCUR-503-45	15,44	a22	42,63	a21
VCUR-503-46	12,55	a18	14,66	a14
VCUR-503-47	4,64	a5	50,29	a31
VCUR-503-48	11,16	a16	3,09	a8
VCUR-503-49	13,68	a19	0,87	a4
VCUR-503-50	16,54	a23	5,08	a9
VCUR-503-51	9,68	a14	45,56	a26
VCUR-503-52	6,00	a7	0,63	a3
VCUR-503-53	10,15	a15	10,92	a13
VCUR-503-54	9,03	a13	0,00	a1
VCUR-503-55	19,54	a25	0,35	a2
VCUR-503-56	14,11	a20	0,55	a3
VCUR-503-57	23,11	a29	9,04	a11
VCUR-503-58	7,57	a10	0,00	a1
VCUR-503-60	7,61	a10	45,13	a25
VCUR-503-61	8,03	a10	3,02	a8
VCUR-503-62	5,03	a5	0,00	a1
VCUR-503-65	8,25	a11	0,00	a1
VCUR-503-66	3,40	a3	64,74	a35
VCUR-503-67	3,53	a3	0,34	a2
VCUR-503-69	16,31	a23	0,00	a1
VCUR-503-70	15,19	a22	0,00	a1
VCUR-503-71	14,64	a21	0,74	a4
VCUR-503-72	22,62	a28	0,00	a1
VCUR-503-74	6,72	a8	10,40	a12
VCUR-503-75	4,84	a5	44,43	a23
VCUR-503-77	14,08	a20	0,00	a1
VCUR-503-78	9,34	a13	0,00	a1
VCUR-503-79	7,12	a9	42,63	a21
VCUR-503-81	14,97	a21	36,58	a16
VCUR-503-82	15,16	a22	0,00	a1
VCUR-503-84	8,67	a12	0,00	a1
VCUR-503-86	2,31	a2	0,00	a1
VCUR-503-88	7,23	a9	47,39	a29
VCUR-503-89	3,59	a3	46,39	a27
VCUR-503-90	6,72	a8	0,00	a1
VCUR-503-91	11,39	a16	41,80	a19
VCUR-503-92	10,66	a15	0,00	a1
VCUR-503-93	15,15	a22	0,00	a1

VCUR-503-94	7,61 a10	2,94 a7
VCUR-503-95	9,55 a14	0,00 a1
VCUR-503-97	10,15 a15	0,00 a1
VCUR-503-98	11,39 a16	0,57 a3
VCUR-503-99	12,05 a17	0,54 a3
VCUR-503-101	4,34 a4	42,41 a20
VCUR-503-102	22,18 a28	0,00 a1
VCUR-503-103	14,69 a21	0,64 a3
VCUR-503-104	15,43 a22	0,00 a1
VCUR-503-106	3,12 a3	0,00 a1
VCUR-503-107	6,79 a8	47,06 a28
VCUR-503-108	5,58 a6	1,75 a5
VCUR-503-109	5,00 a5	0,00 a1
VCUR-503-110	11,70 a17	0,56 a3
VCUR-503-111	3,85 a3	0,00 a1
VCUR-503-112	3,75 a3	0,00 a1
VCUR-503-115	10,31 a15	0,56 a3
VCUR-503-116	3,55 a3	37,28 a17
VCUR-503-118	21,01 a27	0,00 a1
VCUR-503-119	7,70 a10	61,39 a34
Média população	10,71	12,69
CV(%)	2,65	0,79

Médias seguidas de mesma letra e número na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)

Tabela 6. Toxicidade do óleo essencial de progênies de meios-irmãos e parental do programa de melhoramento de *Varronia curassavica* sobre o protozoário *Ichthyophthirius multifiliis* na concentração de 10 mg/L após 1h de exposição.

Acessos	Mortalidade (%)
VCUR-503-119	72,00 a
VCUR-503-91	52,00 ab
VCUR-503-34	51,67 ab
VCUR-503-66	48,33 ab
VCUR-503-101	35,00 b
VCUR-503	20,00 b
CV (%)	26,07
Média da população (%)	46,50

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 7. Correlação entre os compostos presentes no parental (VCUR-503) e progênies de meios-irmãos de *V. curassavica* (VCUR-503-44, VCUR-503-66, VCUR-503-91, VCUR-503-503-101, VCUR-503-119) e a mortalidade do *Ichthyophthirius multifiliis*.

Compostos	Mortalidade	Viridiflorol +	Mortalidade
triciclono	-0,78	triciclono	0,81
α -pineno	-0,80	α -pineno	0,68
δ -elemeno	-0,73	δ -elemeno	0,81
<i>E-cariofileno</i>	-0,13	<i>E-cariofileno</i>	0,88
α -humuleno	-0,14	α -humuleno	0,83
germacreno D	-0,79	germacreno D	0,79
biciclogermacreno	-0,40	biciclogermacreno	0,83
viridiflorol	0,81		

6. ARTIGO 3

DESEMPENHO DE PROGÊNIAS DE MEIOS-IRMÃOS DE *Varronia curassavica* Jacq. COLHIDAS EM DUAS ÉPOCAS.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho de progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* em duas épocas de colheita quanto a massa seca de folhas, teor (TOE), rendimento (ROE) e composição química do óleo essencial. As sementes foram coletadas no acesso VCUR-503, quimiotipo *E*-cariofileno/viridiflorol. Esses compostos são responsáveis pela atividade antiprotozoária de óleos essenciais de *V. curassavica*. As plântulas obtidas constituíram as progênies de meios-irmãos. Essas, juntamente com o parental materno foram transferidas para o campo em espaçamento 1,0 x 1,0 m sem repetição. As colheitas ocorreram em janeiro/2019 (época seca) e junho/2019 (época chuvosa). Os dados agronômicos foram submetidos a análise de variância e a composição química à análise multivariada de agrupamento e componentes principais. As progênies VCUR-503-42 e VCUR-503-58 produziram biomassa superiores a 500 g.planta⁻¹ em ambas colheitas. O TOE (1,21-2,38%) e ROE (2,80-6,35 mL.planta⁻¹) foram superiores na época seca. A análise de agrupamento evidenciou a presença de dois grupos químicos: Grupo I [α -pineno e *E*-cariofileno] contendo 20 progênies de meios-irmãos mais o parental na época seca e 18 progênies mais o parental na época chuvosa; Grupo II [α -pineno, *E*-cariofileno e viridiflorol] contendo 19 progênies na época seca e 21 progênies na época chuvosa. O teor de *E*-cariofileno variou de 3,40 a 24,66% na época seca e de 4,07 a 24,91% na época chuvosa, considerando as progênies que produziram esse composto. Maior média foi observada na época chuvosa (13,33% vs. 10,84%). Enquanto o teor de viridiflorol variou de 0,45 a 64,74% na época seca e de 0,46 a 59,31% na época chuvosa, considerando as progênies que produziram esse composto. Maior média geral para viridiflorol foi observada na época seca (23,75% vs. 22,08%). As progênies de meios-irmãos VCUR-503-01, VCUR-503-02, VCUR-503-45, VCUR-503-66, VCUR-503-88 e VCUR-503-119 apresentam características agronômicas e químicas promissoras como futuras cultivares de *V. curassavica*.

Palavras-chave: Cordiaceae, seleção recorrente, óleo essencial, viridiflorol, sazonalidade.

ABSTRACT

Performance of *Varronia curassavica* jacq. half-sib progenes harvested in two seasons.

The objective of this work was to evaluate the performance of half-sib progenies *Varronia curassavica* in two harvest seasons regarding the variables dry mass of leaves, content, yield and chemical composition of the essential oil. The breeding method used was recurrent selection. Seed were collected in accession VCUR-503 (*E*-caryophyllene/viridiflorol chemotype) and later sown in individual seedbeds containing medium textured soil. The 39 progenies plus the maternal parent were transferred to the field at 1.0 x 1.0 m spacing without repetition. The harvests took place in January/2019 (dry season) and June/2019 (rainy season). Agronomic data were subjected to analysis of variance and chemical composition to multivariate analysis of clustering and principal components. The progenies VCUR-503-42 and VCUR-503-58 produced biomass above 500 g.plant⁻¹ in both crops. TOE (1.21-2.38%) and ROE (2.80-6.35 mL.plant⁻¹) were higher in the dry season. Cluster analysis showed the presence of two chemical groups: Group I, containing 21 accessions (α -pinene and (*E*)-caryophyllene); Group II, containing 19 accessions (α -pinene, (*E*)-caryophyllene and viridiflorol), with group migration being observed for the progenies VCUR-503-12 (Group II in the dry season and Group I in the rainy season) and VCUR-503-14 (Group I in the dry season and Group II in the rainy season). The compound (*E*)-caryophyllene (dry: 10.84% and rainy: 13.33%) had the highest average production in the rainy season, while viridiflorol (dry: 23.75% and rainy: 22.08%) was higher in the dry season. The progenies VCUR-503-01, VCUR-503-02, VCUR-503-45, VCUR-503-66, VCUR-503-88 and VCUR-503-119 present promising agronomic and chemical characteristics as future cultivars in the breeding program of *V. curassavica*.

Keywords: Cordiaceae, recurrent selection, essential oil, viridiflorol, seasonality.

6.1. Introdução

A *Varronia curassavica* (Família: Cordiaceae, syn. *Cordia verbenacea*) é uma espécie medicinal de porte arbustivo e alógama com origem no Brasil (Miller e Gottschling 2007; Perini et al. 2015). As propriedades medicinais do óleo essencial da espécie são reconhecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o qual é utilizado na indústria farmacêutica para o desenvolvimento de fitoterápicos com ação anti-inflamatória (Bristot et al. 2021). Além dos benefícios medicinais, a espécie apresenta uma ampla gama de atividades biológicas comprovadas na literatura com ação bactericida (Rodrigues et al., 2012, Carvalho et al., 2017, Silva et al., 2019), antifúngica (Rodrigues et al., 2012, Nizio et al., 2020), acaricida (Andrade et al., 2021) e antiprotozoária sobre o parasita de peixes de água doce *Ichthyophthirius multifiliis* (Nizio et al., 2018).

A atividade antiprotozoária de *V. curassavica* sobre o *I. multifiliis* deve-se ao sinergismo entre os compostos *E*-cariofileno e viridiflorol presentes no óleo essencial. Porém esses compostos apresentam-se em baixos teores nas plantas da espécie, o que dificulta o desenvolvimento de futuros fitoterápicos.

A Universidade Federal de Sergipe (UFS) vem desenvolvendo um programa de melhoramento para obter uma cultivar com alto teor e rendimento de óleo essencial rico em *E*-cariofileno e viridiflorol, visando maior atividade antiprotozoária. Neste sentido, foram obtidas progênies de meios-irmãos a partir de um acesso que apresenta maior teor dos compostos citados acima, em relação aos demais acessos conservados no banco ativo de germoplasma (BAG) de plantas medicinais e aromáticas da UFS.

É de conhecimento que o teor e a composição química dos óleos essenciais são afetados pela época de colheita. Esse efeito sazonal em acessos de *V. curassavica* foi observado por Oliveira et al. (2020), que comprovaram variação quantitativa entre as épocas de colheita para os constituintes químicos do óleo essencial. Além disso, outros trabalhos já verificaram alterações químicas no óleo essencial de outras espécies aromáticas como *Lantana camara* (Randrianalijaona et al., 2005; Pereira et al., 2022), *Lippia alba* (Gomes et al., 2019), *Lippia gracilis* (Cruz et al., 2014), *Rosmarinus officinalis* (Sadeh et al., 2019), *Pogostemon* sp. (Blank et al., 2011) e *Ocimum basilicum* (Pinto et al., 2019) em função da época de colheita.

Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho de progênies de meios-irmãos de *V. curassavica* colhidas em duas épocas para características agronômicas e composição química do óleo essencial.

6.2. Material e Métodos

6.2.1. Local e dados climáticos

O experimento foi implantado na fazenda experimental “Campus Rural da UFS”, localizado no município de São Cristóvão, Sergipe, Brasil, com coordenadas geográficas latitude 11°00’S e longitude 37°12’W.

Os dados meteorológicos de precipitação (mm) e temperatura (°C) média mensal foram coletados da estação meteorológica de Aracaju, Sergipe, Brasil (93096) do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no intervalo de 01 de março de 2018 a 30 de junho de 2019, correspondentes ao período de experimentação em campo.

6.2.2. Material vegetal e obtenção das progênies de meios-irmãos

Inicialmente sementes foram colhidas das plantas do acesso VCUR-503, que receberam pólen aleatoriamente dos acessos da coleção de *V. curassavica* do banco ativo de germoplasma de plantas medicinais e aromáticas da Universidade Federal de Sergipe (SISGEN A8CCB3B). O parental materno VCUR-503 apresenta maiores teores de *E-cariofileno* e *viridiflorol* em comparação com os demais acessos.

As inflorescências foram protegidas por sacos de tecido-não-tecido (TNT), após constatação de 50% das flores fecundadas. Antes da coleta das sementes foi realizado um monitoramento diário das inflorescências do acesso VCUR-503 para identificar a presença de flores fecundadas e de frutos em estágio de maturidade fisiológico (cor vermelha). Os frutos coletados foram acondicionados em sacos de papel e, posteriormente, submetidos a lavagem em água corrente para remoção de toda a polpa. As sementes foram semeadas em sementeiras individualizadas contendo solo de textura média e transferidas para casa de vegetação com irrigação. As plantas sobreviventes foram transferidas para copos de polietileno contendo o mesmo substrato acrescido de esterco bovino na proporção 3:1. Cada planta foi identificada com o código do parental materno VCUR-503 seguido de um número cardinal da progênie (ex. VCUR-503-01). Uma muda do parental materno foi produzida por estaquia com mesmo substrato e mantida em casa de vegetação.

As plantas transferidas para o campo foram mantidas sem irrigação por todo período de experimento. A primeira colheita foi realizada em janeiro/2019 (período seco) com as plantas apresentando 12 meses de idade. Já a segunda colheita foi realizada em junho/2019 (período chuvoso) quando as plantas estavam com 18 meses de idade. Foram colhidas 39 progênies + parental feminino (VCUR-503) a uma altura de corte de 40 cm da superfície do solo.

6.2.3. Obtenção do óleo essencial

Os materiais colhidos foram desfolhados e as folhas e inflorescências levadas para estufa com circulação forçada de ar a 40°C±1 por cinco dias (Ehlert et al., 2006). O material vegetal seco foi pesado para verificar a produção de massa seca (MSF) por planta. Para

determinação do teor (TOE) e rendimento do óleo essencial (ROE) foram pesados 35g da mistura de folhas+inflorescências secas, em triplicada por planta, e transferidos para balões de vidro com capacidade para 3000 mL com adição de 1500 mL de água destilada. O material foi submetido ao processo de hidrodestilação em aparelho Clevenger por 140 min. para a extração do óleo essencial (Nizio et al. 2018). O teor e o rendimento foram calculados de acordo com a fórmula:

$$\text{Teor de Óleo Essencial (\%)} = \left(\frac{v}{m} \right) \times 100$$

Onde: v= volume de óleo essencial extraído da amostra; m= massa seca da amostra.

$$\text{Rendimento de Óleo Essencial (mL.planta}^{-1}\text{)} = \left(\frac{\text{TOE} \times \text{MSF}}{100} \right)$$

Onde: TOE= Teor do óleo essencial

MSF= Massa seca de folha e inflorescências

Após extração, os óleos essenciais foram mantidos em frascos âmbar e armazenados em freezer até análise química.

6.2.4. Análise química e identificação dos compostos

As análises foram realizadas utilizando um 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 µm de espessura de filme, em um fluxo constante de 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 foi injetado, com uma razão de *split* de 1:30. A programação de temperatura do forno iniciou-se a partir de 50 °C (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de 4 °C min⁻¹, até 200 °C, em seguida, a 10 °C min⁻¹ até 300 °C, permanecendo por 5 min. Para o CG/EM as moléculas foram ionizadas por ionização por elétrons com energia de 70 eV. Os fragmentos 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 foi amplificada e processada. O processamento de dados foi realizado utilizando o software CG Postrun Analysis (Labsolutions- Shimadzu).

A identificação dos constituintes foi realizada com base na comparação dos índices de retenção da literatura (Adams 2017). Para o índice de retenção foi utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (1963) em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos (*n*C9- *n*C18). Também foram utilizadas três bibliotecas do equipamento WILEY8, NIST107 e NIST21 que permite a comparação dos dados dos espectros com aqueles constantes das bibliotecas utilizando um índice de similaridade de 80%.

6.2.5. Análises estatísticas

Os dados agrônômicos (TOE e ROE) e químicos foram submetidos à análise de variância e teste de Scott Knott ($p \geq 0,05$) através do software SISVAR. Os dados dos constituintes químicos obtidos para as duas épocas de colheita foram submetidos a análise multivariada (análise de agrupamento e análise de componentes principais) através do software Statistica 7.0. Foram considerados os compostos que apresentaram teores superiores a 2%. A dissimilaridade entre as progênes de meios-irmãos e parental foi representada através de dendrograma com base na distância euclidiana pelo método de Ward. O corte para formação

dos grupos foi realizado a 70% da distância euclidiana máxima. As médias dos grupos químicos foram comparadas com seus respectivos desvios padrão usando o software Graph Pad Prism®.

6.3. Resultados

6.3.1. Caracterização climática

Com base nos dados meteorológicos foi possível verificar uma precipitação total de 1642,4 mm durante todo o experimento. A época chuvosa correspondeu ao período de março a julho, com precipitação total de 775,10 mm (Figura 1). Já a época seca, com menores precipitações, compreendeu o período de março a julho, com volume de chuva acumulada de 163,90 mm. A temperatura média total foi similar entre as épocas com valores de 29,2°C para a chuvosa e 30,4°C para a seca.

Inserir figura 1

6.3.2. Caracterização agronômica

De acordo com a análise de variância foi observada interação significativa entre genótipo e época de colheita para TOE e ROE. Na época seca, os teores de óleo essencial variaram de 0,67 a 2,38% (Tabela 1). A progênie VCUR-503-101 se destacou com maior média (2,38%), seguida das progênies VCUR-503-116 (2,00%), VCUR-503-75 (2,05%), VCUR-503-32 (1,95%) e VCUR-503-30 (1,95%). Dezenove das 39 progênies tiveram teores médios significativamente superiores ao acesso parental VCUR-503 (1,05%) para essa época de colheita. Na época chuvosa os teores variaram entre 0,75 a 2,05%. Novamente a progênie VCUR-503-101 se destacou com maior média (2,05%), seguida das progênies VCUR-503-116 (1,66%), VCUR-503-75 (1,62%) e VCUR-503-32 (1,67%). Nessa época, 35 progênies apresentaram média estatisticamente superior ao acesso genitor (0,81%). Não foi verificada diferença para o TOE entre as épocas para 25 progênies (64% do total) (Tabela 1). A variação na produção de MSF foi similar entre as épocas seca (153,32-368,88 g.planta⁻¹) e chuvosa (137,93-365,43 g.planta⁻¹), com destaque para as progênies VCUR-503-42 e VCUR-503-58 que produziram biomassa superiores a 500 g.planta⁻¹ em ambas colheitas (Tabela 1).

Para ROE, as médias variaram entre 1,19 a 6,35 mL. planta⁻¹ na época seca e entre 1,10 a 6,57 mL. planta⁻¹ na época chuvosa. As progênies VCUR-503-30 (5,99 mL. planta⁻¹) e VCUR-503-42 (6,35 mL. planta⁻¹) se destacaram com maiores médias para ROE na época seca. Na época chuvosa, apenas a progênie VCUR-503-42 (6,57 mL. planta⁻¹) se destacou em relação às demais. Do total de 39 progênies, 20 e 14 apresentaram médias significativamente superiores ao acesso parental (2,58 mL.planta⁻¹ e 2,98 mL.planta⁻¹), na época seca e chuvosa, respectivamente. Dezesseis progênies não apresentaram variações significativas no ROE entre as épocas de colheita (Tabela 1).

Inserir tabela 1

6.3.3. Caracterização química

De acordo com análise química dos óleos essenciais foram detectados 48 constituintes químicos que tiveram ao menos 2% de teor para algum acesso, em alguma das épocas, dos quais 15 deles não foram identificados. Os constituintes químicos *E*-cariofileno (seca: 10,84% e chuvosa: 13,22%) e viridiflorol (seca: 23,76% e chuvosa: 22,11%) apresentaram as maiores médias gerais em ambas as épocas em relação aos demais compostos (Tabelas 2 e 3). O *E*-cariofileno variou de 0,00% a 24,66% na época seca, com destaque para a progênie VCUR-503-06 (24,66%) que apresentou média superior a 20% (Tabela 2). Na época chuvosa, esse composto apresentou variação de 0,00 a 24,91% sendo observado superioridade para as progênies VCUR-503-31, VCUR-503-35, VCUR-503-50, VCUR-503-70 e VCUR-503-71 que apresentaram médias superiores a 20% (Tabela 3). O viridiflorol apresentou variação de 0,00%

a 64,74% na época seca destacando-se as progêneses VCUR-503-66 (64,74%) e VCUR-503-119 (61,39%) com médias acima de 60%. Na época chuvosa, esse composto variou de 0,00 a 59,31%, com destaque novamente para VCUR-503-66, não sendo observados acessos com teores acima de 60%.

Inserir tabela 2

Inserir tabela 3

A análise de agrupamento demonstrou a formação de dois grupos de acordo com a similaridade química dos óleos essenciais das progêneses de meios-irmãos de *V. curassavica*, para ambas épocas (Figuras 2 e 3). Na época seca, o Grupo I foi constituído pelo parental VCUR-503 e vinte progêneses de meios-irmãos: VCUR-503-53, VCUR-503-74, VCUR-503-43, VCUR-503-06, VCUR-503-50, VCUR-503-35, VCUR-503-49, VCUR-503-15, VCUR-503-23, VCUR-503-70, VCUR-503-12, VCUR-503-13, VCUR-503-25, VCUR-503-26, VCUR-503-71, VCUR-503-52, VCUR-503-31, VCUR-503-32, VCUR-503-58 e VCUR-503-42, e se caracterizou pelos maiores teores médios dos compostos α -pineno (8,58%) e *E*-cariofileno (13,48%). O Grupo II foi constituído por dezenove progêneses de meios-irmãos: VCUR-503-01, VCUR-503-47, VCUR-503-14, VCUR-503-88, VCUR-503-34, VCUR-503-119, VCUR-503-66, VCUR-503-02, VCUR-503-75, VCUR-503-89, VCUR-503-36, VCUR-503-51, VCUR-503-60, VCUR-503-101, VCUR-503-116, VCUR-503-30, VCUR-503-81, VCUR-503-45 e VCUR-503-91, e se caracterizou pelos maiores teores médios dos compostos α -pineno (7,74%), *E*-cariofileno (7,92%) e viridiflorol (47,02%) (Figuras 2 e 3).

Inserir figura 2

Inserir figura 3

Para a época chuvosa o Grupo I foi formado pelo genitor feminino VCUR-503 e por dezoito progêneses de meios-irmãos. Esse grupo foi caracterizado pelos maiores teores médios de α -pineno (9,42%) e *E*-cariofileno (16,22%). Em relação à época seca, houve a saída de três progêneses desse grupo: VCUR-503-53, VCUR-503-74 e VCUR-503-12 ao mesmo tempo em que houve a entrada da progênie VCUR-503-14, que fez parte do grupo II na época anterior. O Grupo II foi representado por 21 progêneses de meios-irmãos, e se caracterizou pelos maiores teores médios dos compostos α -pineno (8,80%), *E*-cariofileno (11,18%) e viridiflorol (41,22%). Em relação à época seca, houve a entrada das progêneses citadas para o grupo I e a saída da progênie VCUR-503-14.

A análise de componentes principais (ACP) para a época seca explicou 33,63% da variância total. Observou-se correlação negativa entre o componente principal primário e os compostos α -zingibereno ($r = -0,98$, C20: 222M+ 41(65); 55(50); 69(57); 81(100); 93(67); 121(60); 161(66) ($r = -0,98$, C24: 222M+ 41(53); 81(100); 93(59); 105(52); 121(64); 161(83) ($r = -0,97$, C27: 220M+ 41(80); 55(50); 67(52); 69(65); 79(55); 81(99); 93(83); 95(58); 107(100); 108(61); 150(63); 220(64) ($r = -0,97$, 7-ciclododecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil) ($r = -0,98$, C35: 204M+ 43(63); 81(73); 105(72); 161(100); 189(53); 204(75) ($r = -0,98$, C36: 220M+ 42(100); 159(84); 162(77) ($r = -0,95$, C38: 202M+ 41(53); 43(69) 55(56); 67(87); 77(64); 79(78); 91(96); 93(100); 105(55); 109(80); 145(54); 187(62); 202(54) ($r = -0,98$, epi-a-cadinol ($r = -0,77$) e C42: 202M+ 69(75); 91(74); 93(84); 95(100); 109(63); 132(79); 202(57) ($r = -0,98$) para . Os compostos ar-turmerol ($r = -0,83$, C44: 202M+ 67(60), 69(99); 91(69); 93(71); 95(100); 109(71); 132(59); 202(71) ($r = -0,83$) e C46: 218M+ 83(100); 105(93); 120(63) ($r = -0,83$) se correlacionaram negativamente com o componente principal secundário.

Para a época chuvosa a ACP explicou 31,66% da variância total e o componente principal primário apresentou correlação negativa com os compostos C13: 222M+ 41(65);

55(50); 69(57); 81(100) ($r = -0,98$), C24: 222M+ 41(53); 81(100); 93(59); 105(52); 121(64); 161(83) ($r = -0,97$), 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil) ($r = -0,98$), C35: 204M+ 43(63); 81(73); 105(72); 161(100); 189(53); 204(75) ($r = -0,98$), C36: 220M+ 42(100); 159(84); 162(77) ($r = -0,95$), C38: 202M+ 41(53); 43(69) 55(56); 67(87); 77(64); 79(78); 91(96); 93(100); 105(55); 109(80); 145(54); 187(62); 202(54) ($r = -0,98$), C42: 202M+ 69(75); 91(74); 93(84); 95(100); 109(63); 132(79); 202(57) ($r = -0,96$) e C27: 220M+ 41(80); 55(50); 67(52); 69(65); 79(55); 81(99); 93(83); 95(58); 107(100); 108(61); 150(63); 220(64) ($r = -0,97$). O componente principal secundário se correlacionou positivamente com os compostos ar-turmerol ($r = -0,83$), C44: 202M+ 67(60), 69(99); 91(69); 93(71); 95(100); 109(71); 132(59); 202(71) ($r = -0,83$) e C46: 218M+ 83(100); 105(93); 120(63) ($r = -0,83$).

Inserir figura 4

6.4. Discussão

O teor de óleo essencial das progênies e parental de *V. curassavica*, ou mantiveram-se os mesmos, ou aumentaram da época seca para a chuvosa. De forma geral, foi observado um número maior de acessos com produções semelhantes entre as duas épocas, entretanto, o teor médio geral para a época seca (1,26%) foi superior a chuvosa (1,10%). A partir dos dados climáticos, é possível que algumas das progênies tenham permanecido sob condições de estresse hídrico na época seca anterior à colheita (agosto-janeiro) em que a precipitação pluviométrica média foi de 23,41 mm e a temperatura média de 30,4°C, enquanto na época chuvosa (março-junho) o índice pluviométrico médio esteve acima de 150 mm e temperatura média de 29,2°C.

O maior teor de óleo essencial na estação seca pode estar relacionado ao aumento da produção de terpenos sob níveis elevados de radiação solar e temperatura que. Essas condições climáticas podem induzir uma maior resposta fotossintética e, conseqüentemente, gera uma maior dependência de moléculas energéticas como ATP, NADPH e Acetil-SCoA, com estruturas carbônicas, que são de extrema importância para a biossíntese dos metabolitos secundários na planta (Taiz e Zeiger 2013). Além disso, os constituintes dos óleos essenciais podem atuar na defesa da planta contra a condição adversa de estresse hídrico e altas temperaturas.

Oliveira et al. (2020) verificaram diferenças nos teores de óleo essencial em diferentes épocas de colheita de acessos conservados no BAG de *V. curassavica*. Para o parental materno VCUR-503 não foram observadas diferenças significativas entre os teores de óleo essencial na época seca (1,73%) e chuvosa (1,23%), no entanto, outros acessos apresentaram maior teor de óleo essencial na época seca. Além desse, outros estudos relataram que espécies como *Pogostemon cablin* (Blank et al., 2011), *Lippia alba* (Barros et al. 2009), *Cymbopogon winterianus* (Blank et al. 2007) e *Lippia gracilis* produzem mais óleo essencial na condição de seca. Entretanto, para o manjeriço (*Ocimum basilicum*), maiores teores foram observados na época chuvosa (Pinto et al., 2019).

Ao comparar o desempenho agrônômico (MSF, TOE e ROE) dos genótipos, verificou-se que a obtenção de progênies de meios-irmãos proporcionou melhoria dessas características em algumas progênies, que apresentaram desempenho superior em relação ao genitor feminino. É sugerido que essa superioridade de algumas progênies se deva aos acessos do BAG geneticamente contrastantes que foram doadores de polen no intercruzamento com o acesso VCUR-503. Tal fato pode ter proporcionado ganhos em características quantitativas gerando uma população superior aos genitores iniciais (Berilli et al., 2013).

O composto *E*-cariofileno foi detectado de forma geral com maiores médias na época chuvosa, entretanto, o viridiflorol foi superior na época seca (Tabela 2 e 3). Independentemente dessas variações, dois grupos químicos foram formados em ambas épocas. A mudança de grupos de algumas progênies do grupo I na época seca para o grupo II na época chuvosa

(VCUR-503-12, VCUR-503-53 e VCUR-503-740) deveu-se ao aumento no teor de viridiflorol entre as épocas. Com destaque para VCUR-503-12 que não apresentou esse composto na época seca e obteve 28,82% na época chuvosa. Por outro lado, a progênie VCUR-503-14, que migrou do grupo II (época seca) para o grupo I (época chuvosa) teve redução drástica no teor de viridiflorol, de 48,91% para 2,90%. A interação entre a temperatura x precipitação x condição genética pode afetar consideravelmente os teores dos compostos majoritários, sendo um dos possíveis motivos da oscilação para alguns compostos entre as duas épocas no grupo I e II (DEWICK, 2009). Além disso, observa-se que o grupo II concentrou as progênies de interesse ao programa de melhoramento por indicar maiores teores de *E*-cariofileno e viridiflorol.

As rotas de biossíntese dos terpenos são a via do ácido mevalônico e a via do metileritritol fosfato (MEP), que possui ampla dependência de moléculas oriundas do metabolismo primário como a fotossíntese, ciclo de Calvin, glicólise e descarboxilação oxidativa (Dewick, 2009; Taiz e Zeiger, 2013; Shukal et al., 2019). Um aumento da luminosidade e temperatura provocam fotoinibição na recepção de fótons nos fotossistemas II e redução da assimilação de CO₂ devido ao decréscimo do estado de ativação da rubisco via inibição da Rubisco ativase ou pela limitação no transporte de elétrons para regeneração da ribulose-1,5 bifosfato como avaliado por Dias e Marengo (2007) em *Swietenia macrophylla* e *Minquartia guianensis*. Essas alterações nas rotas metabólicas podem inibir ou reduzir a produção de terpenos na planta reduzindo seus teores (Barros et al., 2009).

Um estudo realizado por Tran e Cramer (2014) constatou que altas temperaturas durante o processo de síntese de compostos como biciclogermacreno comprometem e alteram as reações enzimáticas importantes para a produção de viridiflorol, sendo observado maiores teores de compostos como espatulenol e aromadendreno nas plantas. Além disso, uma investigação da rota metabólica do viridiflorol, realizada com o óleo essencial de *Melaleuca quinquenervia*, evidenciaram que entre esses compostos intermediários, o alloaromadendreno é uma molécula chave na obtenção de uma série de compostos químicos como o viridiflorol e o ledol (Bombarda et al., 2001; Silva et al., 2010).

Oliveira et al. (2020) também atesta semelhanças quanto à estabilidade dos grupos químicos de uma época para a outra, sem grandes mudanças qualitativas dentro dos grupos. Em relação ao perfil químico, os autores verificaram que o *E*-cariofileno (chuvosa= 13,29% e seca=5,92%) e o α -humuleno (chuvosa= 3,44% e seca=1,74%) sofreram reduções na produção sob condições de baixa precipitação e altas temperaturas. Para o viridiflorol (chuvosa= 32,84% e seca=52,47%) a época seca aumentou significativamente o teor desse composto corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

A precipitação e temperatura tem papel determinante na escolha da época de colheita das plantas visando a extração do óleo essencial (Botrel et al., 2010). Com base nos dados apresentados, as progênies VCUR-503-06, VCUR-503-15, VCUR-503-23, VCUR-503-25, VCUR-503-26, VCUR-503-31, VCUR-503-35, VCUR-503-36, VCUR-503-42, VCUR-503-43, VCUR-503-45, VCUR-503-47, VCUR-503-49, VCUR-503-50, VCUR-503-51, VCUR-503-52, VCUR-503-56, VCUR-503-53, VCUR-503-58, VCUR-503-71, VCUR-503-74, VCUR-503-81, VCUR-503-88, VCUR-503-89, VCUR-503-91, VCUR-503-119 se apresentaram ideais para o cultivo em ambas as épocas por não diferirem sua produção de óleo essencial nos períodos secos e chuvosos (Figura 2). Entretanto, o parental VCUR-503 e as progênies VCUR-503-01, VCUR-503-02, VCUR-503-12, VCUR-503-13, VCUR-503-14, VCUR-503-30, VCUR-503-32, VCUR-503-34, VCUR-503-60, VCUR-503-66, VCUR-503-70, VCUR-503-75, VCUR-503-101 e VCUR-503-116 obtiveram teores médios superiores para a época seca, o que indica um melhor cultivo durante os meses de menores precipitações e maior temperatura (agosto a fevereiro).

6.5. Conclusão

As progênies de meios-irmãos VCUR-503-01, VCUR-503-02, VCUR-503-45, VCUR-503-66, VCUR-503-88 e VCUR-503-119 apresentam características agrônômicas e químicas promissoras como futuras cultivares no programa de melhoramento de *V. curassavica*. A composição química dos óleos essenciais apresentou certa estabilidade nas épocas avaliadas para a grande maioria das progênies de meios-irmãos de *V. curassavica*.

6.6. Referências Bibliográficas

- Acquaah G (2012) Principles of plant genetics and breeding. Wiley-Blackwell, Mayland, 807p.
- Adams RP (2017) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 804p.
- Andrade FP, Venzon M, Dores RGR., Franzin ML, Martins EF, Araújo GJ, Fonseca e MCM (2021) Toxicity of *Varronia curassavica* Jacq. Essential Oil to Two Arthropod Pests and Their Natural Enemy. **Pest Management** 50: 835-845.
- Barros FMC, Zambarda EO e Heinzmann BM (2009) Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova** 32: 861-867.
- Berilli APCG, Pereira MG, Trindade RDS, Costa FRD e Cunha KSD (2013) Response to the selection in the 11th cycle of reciprocal recurrent selection among full-sib families of maize. **Acta Scientiarum. Agronomy** 35: 435-441.
- Blank AF, Costa AG, Arrigoni-Blank MF, Cavalcanti SCH, Alves PB, Innecco R; Ehler PAD e Souza IF (2007) Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 17: 557-564.
- Blank AF, Sant'ana TCP, Santos OS, Arrigoni-Blank MF, Prata APN, Jesus HCR e Alves PB (2011) Chemical characterization of the essential oil from patchouli accessions harvested over four seasons. **Industrial Crops and Products** 34: 831-837.
- Bombarda I, Raharivelomanana, P, Ramanoelina PA, Faure R, Bianchini JP, Gaydou, EM (2001) Spectrometric identifications of sesquiterpene alcohols from niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) essential oil. **Analytica Chimica Acta** 447: 113-123.
- Botrel, PP, Pinto JEBP, Ferraz V, Bertolucci SKV e Figueiredo FC (2010) Content and chemical composition of *Hyptis marrubioides* essential oil in function of seasons. **Acta Scientiarum. Agronomy** 32: 533-538.
- Bristot AF, Colle MPD, Rossato AE e Citadini-Zanette V (2021) Medicinal use of *Varronia curassavica* Jacq. “erva-baleeira” (Boraginaceae): case study in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research** 4: 170-182.
- Carvalho VR de A, Silva MK do N, Aguiar JJS, Bitu V de CN, Costa JGM da, Ribeiro-Filho J, Coutinho HDM, Pinho AI and Fagner Ferreira Matias E (2017) Antibiotic-Modifying Activity and Chemical Profile of the Essential Oil from the Leaves of *Cordia verbenacea* DC. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants** 20: 337–345.
- Cruz EMO, Pinto JAO Fontes, SS, Arrigoni-Blank MF, Bacci L, Jesus HCR, Santos DA, Alves

- PB e Blank AF (2014) Water deficit and seasonality study on essential oil constituents of *Lippia gracilis* Schauer germplasm. **The Scientific World Journal** 2014: 1-9.
- Dewick PM (2009) Medicinal Natural Products Medicinal. 137–184p.
- Dias DP e Marengo RA (2007) Photosynthesis and photoinhibition in mahogany and acariquara as a function of irradiance and leaf temperature. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 42: 305-311.
- Ehlert PAD, Blank AF, Arrigoni-Blank MF, Paula JWA, Campos DA e Alviano CS (2006) Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** 8: 79-80.
- FAO (2020) El estado mundial de la pesca y la acuicultura: Oportunidades y desafíos. Roma. 204 p.
- Gomes AF, Almeida MP, Leite MF, Schwaiger S, Stuppner H, Halabalaki M, Amaral JG, David JM (2019) Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. **Food Chemistry** 273: 186-193.
- Miller JS e Gottschling M (2007) Generic classification in the Cordiaceae (Boraginales) resurrection of the genus Varronia P. Br. **Taxon** 56: 163-169.
- Nizio DAC, Fujimoto RY, Maria AN, Carneiro PCF, França CCS, da Costa Sousa N, de Andrade Brito F, Sampaio TS, de Fátima Arrigoni-Blank M and Blank AF (2018) Essential oils of *Varronia curassavica* accessions have different activity against white spot disease in freshwater fish. **Parasitology Research** 117: 97–105.
- Nizio DAC, Blank AF, Brito FA, Gagliardi PR, Alves E, Arrigoni-Blank MFA (2020) A comparative study of the antifungal activity of essential oils of *Varronia curassavica* Jacq. obtained by different distillation methods. **Bioscience Journal** 36: 1951-1960.
- Oliveira BMS, Blank AF, Nizio DA de C, Nogueira PCDL. Arrigoni-Blank M de F, Bacci L (2020) Chemical analyses of the essential oils *Varronia curassavica* accessions in two seasons. **Journal of Essential Oil Research** 32: 494-511.
- Pereira KLG, Nizio DAC, Nogueira PCL, Fernandes RPM, Arrigoni-Blank MF, Sá-Filho JCF, Nascimento LFA, Souza VT, Silva KP, Blank AF (2022) Seasonal variance in the chemical composition of essential oils from *Lantana camara* accessions and their trypanocidal activity on *Phytomonas serpens*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas** 21: 737 - 756.
- Perini JA, Angeli-Gamba T, Alessandra-Perini J, Ferreira LC, Nasciutti LE d Machado DE (2015) Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: A histopathological, immunohistochemical and biochemical study. **BMC Complementary and Alternative Medicine** 15: 1–8.
- Pinto JAO, Blank, AF, Nogueira, PCL, Arrigoni-Blank, MF, Andrade, TM, Sampaio, TS, Pereira, KLG (2019) Chemical characterization of the essential oil from leaves of basil genotypes cultivated in different seasons. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas** 18: 58 – 70.

- Randrianalijaona J, Ramanoelina PAR., Rasoarahona JRE d Gaydou EM (2005) Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana camara* L.: Essential oils from Madagascar. **Analytica Chimica Acta** **545**: 46-52, 2005.
- Rodrigues FFG, Oliveira LGS e Costa JGM (2012) Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. **Pharmacognosy Research** **4**: 161-165.
- Sadeh D, Nitzan N, Chaimovitsh D, Shachter A e Ghanim M (2019) Interactive effects of genotype, seasonality and extraction method on chemical compositions and yield of essential oil from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Industrial Crops and Products**: **138**: 111419.
- Shukal S, Chen X, Zhang C (2019) Systematic engineering for high-yield production of viridiflorol and amorphadiene in auxotrophic *Escherichia coli*. **Metabolic Engineering** **55**: 170-178.
- Silva CDMD, Bolzan AA, Mallmann CA, Pozzatti P, Alves SH, Heinzmann BM (2010) Sesquiterpenoids of *Senecio bonoriensis* Hook & Arn., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia** **20**: 87-92.
- Silva KP, Santos TAC, Moutinho BL, Silva RS, Pinto VS, Blank AF, Corrêa CB, Scher R, Fernandes RPM (2019) Using *Varronia curassavica* (Cordiaceae) essential oil for the biocontrol of *Phytophthora parasitica*. **Industrial Crops and Products** **139**: 1-7.
- Taiz L e Zeiger E (2013) Fisiologia vegetal. 5th edn, Artmed, Porto alegre, 918p.
- Tran, DN e Cramer N (2014) Biomimetic synthesis of (+)-ledene, (+)-viridiflorol, (-)-palustrol(+), spathulenol, and psiguadial A, C, and D via the platform terpene (+)-bicyclogermacrene. **Chemistry a European Journal** **20**: 1-7.
- Van Den Dool H e Kratz PD (1963) A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography** **1**: 463-471.

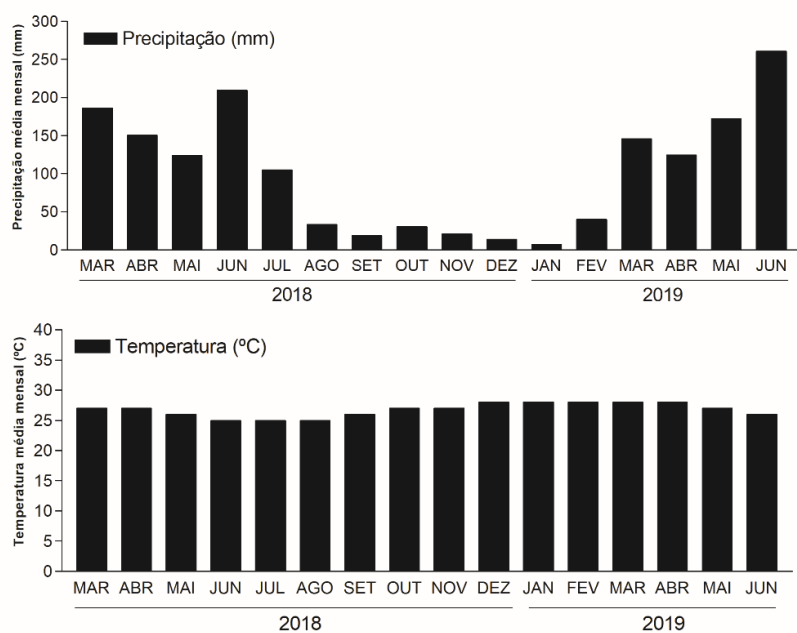


Figura 1. Médias de precipitação e temperatura na área experimental (São Cristóvão-SE) entre os anos de 2018 e 2019.

Tabela 1. Massa seca de folhas e inflorescências (MSF), teor (TOE) e rendimento (ROE) de óleo essencial de progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* para duas épocas de colheita (seca e chuvosa).

Genótipo	MSF (g.planta ⁻¹)		TOE (%)		ROE (%)	
	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa	Seca	Chuvosa
VCUR-503	367,89	246,30	1,05 fA	0,81 fB	2,58 hA	2,98 fA
VCUR-503-01	180,05	294,00	1,33 eA	1,14 dB	4,20 cA	2,06 hB
VCUR-503-02	190,00	156,40	1,62 dA	1,09 dB	2,68 hA	2,08 hB
VCUR-503-06	342,20	430,00	0,76 hA	0,76 fA	3,28 fA	2,60 gB
VCUR-503-12	311,90	231,50	1,14 fA	0,95 eB	2,65 hA	2,97 fA
VCUR-503-13	288,00	201,90	1,21 eA	0,86 eB	2,50 hA	2,47 gA
VCUR-503-14	140,45	92,65	1,24 eA	0,95 eB	1,19 kA	1,33 iA
VCUR-503-15	280,50	431,30	0,86 gB	1,19 dA	3,70 eA	3,34 eA
VCUR-503-23	189,70	180,10	1,00 gA	0,95 eA	1,71 jA	1,81 hA
VCUR-503-25	239,70	295,70	1,05 fA	1,05 dA	3,10 gA	2,51 gB
VCUR-503-26	359,15	222,00	0,76 hA	0,81 fA	1,80 jB	2,91 fA
VCUR-503-30	270,70	307,00	1,95 bA	1,00 dB	5,99 aA	2,71 fB
VCUR-503-31	120,80	213,60	0,76 hA	0,91 eA	1,63 jA	1,10 iB
VCUR-503-32	190,20	139,80	1,95 bA	1,67 bB	2,80 gA	3,17 eA
VCUR-503-34	200,00	241,80	1,29 eA	1,09 dB	3,34 fA	2,19 gB
VCUR-503-35	210,66	280,00	1,00 gA	1,00 dA	2,67 hA	2,11 hB
VCUR-503-36	256,00	126,00	1,14 fA	1,09 dA	1,44 kB	2,81 fA
VCUR-503-42	626,70	555,50	1,14 fA	1,05 dA	6,35 aA	6,57 aA
VCUR-503-43	230,25	313,50	1,19 fA	1,14 dA	3,88 dA	2,63 gB
VCUR-503-45	288,40	310,20	1,34 eA	1,09 dA	3,99 dA	3,16 eB
VCUR-503-47	250,50	118,90	1,48 dA	1,34 cA	1,70 jB	3,34 eA
VCUR-503-49	170,35	244,80	0,95 gA	1,00 dA	2,10 jA	1,70 hA
VCUR-503-50	310,30	402,00	0,81 hA	0,86 eA	3,06 gA	2,66 fB
VCUR-503-51	110,20	184,00	1,24 eA	1,09 dA	2,19 iA	1,21 iB
VCUR-503-52	160,65	125,30	1,14 fA	1,05 dA	1,43 kA	1,69 hA
VCUR-503-53	190,43	173,60	1,57 dA	1,48 cA	2,65 hA	2,81 fA
VCUR-503-58	538,50	610,70	0,67 hA	0,75 fA	3,49 fB	4,03 cA
VCUR-503-60	160,20	272,40	1,38 eA	1,09 dB	3,89 dA	1,75 hB
VCUR-503-66	150,75	125,00	1,76 cA	1,52 cB	2,26 iA	2,30 gA
VCUR-503-70	190,34	128,60	1,09 fA	0,91 eB	1,47 kA	1,72 hA
VCUR-503-71	244,67	182,60	0,90 gA	0,76 fA	1,70 jA	1,87 hA
VCUR-503-74	199,43	255,60	1,48 dA	1,24 dA	3,77 eA	2,47 gB
VCUR-503-75	200,43	211,00	2,05 bA	1,62 bB	4,32 cA	3,25 eB
VCUR-503-81	289,54	157,00	1,24 eA	1,24 dA	1,79 jB	3,58 eA
VCUR-503-88	450,36	306,10	1,14 fA	0,95 eA	3,50 fA	4,29 cB
VCUR-503-89	310,24	262,30	1,33 eA	1,14 dA	3,75 eA	3,55 eA
VCUR-503-91	312,62	372,70	1,19 fA	1,09 dA	4,26 cA	3,42 eB
VCUR-503-101	270,43	206,00	2,38 aA	2,05 aB	4,91 bB	5,53 bA
VCUR-503-116	150,32	113,60	2,00 bA	1,66 bB	2,27 iA	2,51 gA
VCUR-503-119	340,18	298,30	1,05 fA	1,09 dA	2,98 gB	3,73 dA
Média geral	261,105	251,68	1,26	1,10	2,96	2,78
CVa (%)	-	-	8,74		8,01	
CVb (%)	-	-	8,66		9,12	

Médias seguidas da mesma letra minúscula entre os acessos nas colunas e maiúscula entre as épocas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p < 0,05$)

Tabela 2. Constituintes químicos (C01 a C48) do óleo essencial de progênes de meios-irmãos de *Varronia curassavica* colhidos na época seca (Janeiro/2019) em São Cristóvão-SE.

Progênes	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24
VCUR-503 (P)	0,17	9,27	0,00	0,58	1,50	0,25	2,49	0,39	10,91	0,00	3,13	0,00	0,00	4,76	0,54	0,00	0,00	4,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-01	0,14	7,94	0,00	0,27	2,18	0,00	0,26	0,43	8,03	0,00	2,35	0,00	0,00	0,54	0,00	0,00	1,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-02	0,00	6,98	0,16	0,48	1,89	0,15	2,89	0,29	5,13	0,00	1,55	2,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
VCUR-503-06	0,00	4,36	0,18	0,15	1,20	0,15	3,73	0,00	24,66	0,00	7,45	0,20	0,00	2,61	1,56	0,00	0,00	7,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-12	0,09	9,32	0,22	0,48	0,43	0,00	0,47	0,44	15,07	0,00	4,13	0,00	0,00	4,68	0,00	0,00	0,00	0,00	2,28	0,00	0,00	6,14	0,00	0,00
VCUR-503-13	0,15	11,13	0,00	0,53	0,59	0,32	0,47	0,50	8,33	0,00	2,62	0,00	0,00	4,03	1,48	0,00	0,00	0,00	2,20	0,00	0,00	6,41	0,00	0,00
VCUR-503-14	0,12	3,85	0,00	0,27	0,18	0,19	0,31	0,52	8,66	0,00	2,49	0,00	0,00	0,96	1,31	0,00	0,00	0,00	0,75	0,00	0,00	4,18	0,00	0,00
VCUR-503-15	0,09	9,35	0,00	0,48	2,37	0,00	5,22	0,00	19,04	0,00	5,85	0,00	0,00	2,66	0,00	0,00	0,00	0,00	1,08	0,00	0,00	0,00	2,23	0,00
VCUR-503-23	0,09	3,83	0,22	0,27	1,55	0,28	4,91	0,00	19,84	0,00	5,64	0,00	0,00	8,68	0,00	0,00	9,89	0,00	4,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-25	0,09	8,44	0,23	0,33	1,96	0,23	0,52	0,40	16,12	0,00	4,50	0,00	0,00	4,44	1,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,40	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-26	0,19	11,87	0,59	0,46	3,80	0,28	0,90	0,42	14,64	0,00	4,42	0,00	0,00	4,55	0,81	0,00	0,00	2,08	0,00	0,00	0,00	6,09	0,00	0,00
VCUR-503-30	1,10	3,26	1,17	0,30	0,19	0,16	0,60	0,41	14,90	0,00	4,07	1,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,44	0,00
VCUR-503-31	0,13	1,54	0,17	0,15	0,19	0,29	0,92	0,59	19,84	0,00	5,97	0,00	0,00	3,97	0,00	2,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,78	0,00	0,00
VCUR-503-32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,72	0,30	11,61	0,00	3,34	0,00	3,10	0,27	0,00	0,00	0,00	2,05	0,00	6,79	0,00	0,00	0,00	3,60
VCUR-503-34	0,09	5,93	0,26	0,21	2,04	0,27	0,18	0,00	6,61	0,00	1,93	0,32	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	0,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-35	0,00	6,22	0,18	0,15	0,15	0,00	3,22	0,00	19,17	0,00	5,48	0,00	0,00	3,20	0,00	0,00	0,00	7,42	3,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-36	0,18	13,15	0,55	0,36	3,87	0,39	0,15	0,30	8,73	0,00	2,42	0,32	0,00	0,78	0,00	0,00	0,00	0,82	0,00	0,00	0,00	3,09	0,00	0,00
VCUR-503-42	26,25	0,00	21,06	0,29	0,28	0,00	0,58	0,00	0,00	19,01	2,94	0,00	0,00	0,00	1,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-43	0,00	31,30	0,24	0,28	0,19	0,14	3,40	0,00	13,46	0,00	3,71	0,00	0,00	2,26	0,79	0,00	0,00	6,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-45	0,00	4,53	0,14	0,19	1,21	0,10	0,29	0,00	15,44	0,00	4,39	0,00	0,00	0,70	1,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,99	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-47	0,00	3,73	0,14	0,23	0,27	0,08	0,43	0,47	4,64	0,46	1,43	0,00	0,00	1,22	0,84	0,00	1,99	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	3,82	0,26
VCUR-503-49	0,17	9,52	0,50	0,32	3,06	0,27	4,91	0,00	13,68	0,00	4,14	0,00	0,00	6,51	1,04	0,00	0,00	10,21	0,00	0,00	4,56	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-50	0,12	3,42	0,32	0,22	0,18	0,17	7,89	0,00	16,54	0,00	4,93	5,96	0,00	0,16	1,00	0,00	0,00	14,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-51	0,23	11,74	0,53	0,43	2,81	0,00	0,21	0,32	9,68	0,00	2,74	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,75	0,00
VCUR-503-52	0,17	11,71	0,45	0,70	0,62	0,00	0,45	0,37	6,00	0,00	2,05	0,00	0,00	3,75	0,74	0,00	0,00	1,18	0,00	0,00	0,00	5,45	0,00	0,00
VCUR-503-53	0,14	13,92	0,44	0,94	4,51	0,33	0,70	0,39	10,15	0,00	3,16	0,00	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00	1,87	0,00	0,00	5,86	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-58	0,00	0,54	0,00	0,00	0,21	0,00	0,92	0,00	7,57	0,00	2,22	0,00	0,00	2,43	1,17	0,00	0,00	2,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-60	0,16	9,36	0,00	0,25	2,77	0,29	1,54	0,00	7,61	0,00	2,19	0,00	0,00	1,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-66	0,14	9,58	0,39	0,27	3,18	0,35	0,25	0,38	3,40	0,00	1,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,37	0,00	0,00
VCUR-503-70	0,10	7,22	0,20	0,27	1,50	0,17	4,19	0,00	15,19	0,00	4,38	0,00	0,00	7,79	0,00	0,00	9,77	0,00	4,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-71	0,14	5,75	0,00	0,28	0,16	0,22	0,81	0,47	14,64	0,00	4,18	0,00	0,00	4,99	0,00	0,00	0,00	0,00	2,09	0,00	0,00	7,97	0,00	0,00
VCUR-503-74	0,19	21,57	0,65	1,00	6,92	0,47	0,40	0,34	6,72	0,00	2,17	2,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,52	0,00	0,00	5,03	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-75	0,13	9,13	0,18	0,41	2,30	0,17	2,64	0,29	4,84	0,00	1,50	2,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-81	0,00	4,89	0,00	0,38	0,25	0,15	0,31	0,44	14,97	0,00	4,11	0,00	0,00	0,98	0,00	0,00	0,99	0,00	0,64	0,00	0,00	2,53	0,00	0,00
VCUR-503-88	0,00	6,19	0,00	0,21	1,52	0,00	2,23	0,28	7,23	0,00	2,18	0,00	0,00	1,26	0,00	0,00	4,84	0,00	0,00	0,00	0,00	1,83	0,00	0,00
VCUR-503-89	0,16	13,05	0,44	1,00	4,40	0,26	3,02	0,31	3,59	0,00	1,19	0,00	0,00	2,12	0,00	0,00	0,00	5,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-91	0,00	5,27	0,15	0,18	0,14	0,15	2,08	0,00	11,39	0,00	3,25	1,49	0,00	0,00	1,02	0,00	0,00	4,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-101	0,09	12,04	0,23	0,62	2,95	0,21	1,85	0,27	4,34	0,00	1,32	0,00	0,00	1,53	0,00	0,00	4,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-116	0,09	14,30	0,27	0,52	2,94	0,20	1,72	0,21	3,55	0,00	1,12	0,00	0,00	1,36	0,00	0,00	3,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-119	0,00	2,22	0,00	0,00	0,64	0,00	0,24	0,43	7,70	0,00	2,23	0,00	0,00	0,50	1,47	0,00	0,00	0,00	0,58	0,00	0,00	3,98	0,00	0,00
IRc	917	929	942	967	971	1173	1334	1409	1423	1424	1446	1460	1482	1483	965	977	1489	1498	1510	1511	1513	989	1515	1518
IRI	926	932	946	969	974	1774	1335	1409	1417	1434	1452		1487	1484	926			1500	1511		1528	926		

Compostos: (C01) triciclono, (C02) α -pineno, (C03) canfeno, (C04) sabineno, (C05) β -pineno, (C06) terpinen-4-ol, (C07) δ -elemeno, (C08) α -gurjuneno, (C09) *E*-cariofileno, (C10) γ -elemeno, (C11) α -humuleno, (C12) 204M+ 105(54); 161(100), (C13) α -zingibereno, (C14) germacreno D, (C15) β -selineno, (C16) 204M+ 91(50); 93(90); 105(100); 107(53); 121(83); 161(66), (C17) 204M+ 91(50); 93(96); 105(81); 107(68); 119(52); 121(100); 161(51) (C18) biciclogermacreno, (C19) δ -amorfo, (C20) 222M+ 41(65); 55(50); 69(57); 81(100); 93(67); 121(60); 161(66), (C21) cis-calameneno, (C22) trans-calameneno, (C23) 202M+ 159(100), (C24) 222M+ 41(53); 81(100); 93(59); 105(52); 121(64); 161(83). IRc: Índice de retenção na coluna RTX-SMS calculados de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963); IRI: Índice de retenção segundo Adams (2017).

Tabela 2. Continuação.

Progênes	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C34	C35	C36	C37	C38	C39	C40	C41	C42	C43	C44	C45	C46	C47	C48
VCUR-503	4,11	0,00	0,00	0,00	0,00	1,23	0,00	0,62	19,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,51	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	53,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-02	2,22	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	0,00	0,00	44,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-06	2,76	0,00	0,00	0,00	7,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-12	3,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	0,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	48,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,14	1,04	5,33	0,00	0,00	0,00	0,00	12,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,79	0,00	0,00	6,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,10	0,86	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-26	0,00	2,25	0,00	0,00	0,00	1,56	9,04	1,00	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,75	38,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,07	0,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	1,71	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-32	0,00	0,00	3,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,78	0,00	16,92	0,98	2,32	0,00	2,29	1,69	0,00	0,00	5,21	8,61	0,00	0,00	0,00	3,80	0,00
VCUR-503-34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,31	58,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,90	7,95	2,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00	0,00	43,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,82	0,00	0,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-43	2,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24
VCUR-503-47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	50,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-49	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	5,08	10,31	1,99	0,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-50	2,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	1,55	0,00	5,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-52	0,00	2,09	0,00	0,00	0,00	0,98	7,96	0,55	0,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	10,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-58	0,00	0,00	0,00	5,95	0,00	3,63	0,00	1,57	0,00	0,00	0,00	0,00	8,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,13	5,72	0,00	11,07	7,07	0,00
VCUR-503-60	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	3,03	0,00	0,00	45,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	64,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-70	0,00	0,00	0,00	0,00	4,35	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,46	9,04	0,88	0,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	10,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-75	1,80	0,00	0,00	0,00	0,00	2,36	0,00	0,00	44,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	36,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,12	47,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-89	0,00	1,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	46,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-91	0,00	0,00	0,31	0,00	3,06	0,00	0,00	0,00	41,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-101	1,94	0,00	0,00	0,00	0,00	2,69	0,00	0,00	42,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-116	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,72	0,00	0,00	37,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-119	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,97	61,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IRL	1522	1528	1548	1567	1575	1582	1586	1588	1603	1607	1612	1623	1624	1628	1634	1646	1649	1649	1650	1654	1657	1663	1680	1690
IRC	1522	1522		1582		1577	1590	1582	1592	1621					1635	1640	1652		1668		1652			

Compostos: (C25) δ -cadineno, (C26) β -cadineno, (C27) 220M+ 41(80); 55(50); 67(52); 69(65); 79(55); 81(99); 93(83); 95(58); 107(100); 108(61); 150(63); 220(64), (C28) ar-turmerol, (C29) 222M+ 81(64); 105(62); 161(100), (C30) espatulenol, (C31) globulol, (C32) óxido de cariofileno, (C33) viridiflorol, (C34) 7-ciclodecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil), (C35) 204M+ 43(63); 81(73); 105(72); 161(100); 189(53); 204(75), (C36) 220M+ 42(100); 159(84); 162(77), (C37) 220M+ 41(100); 55(65); 67(85); 79(60); 81(56); 82(54); 91(82); 93(64); 95(81); 105(54); 107(52); 109(62); 119(60); 136(61), (C38) 202M+ 41(53); 43(69) 55(56); 67(87); 77(64); 79(78); 91(96); 93(100); 105(55); 109(80); 145(54); 187(62); 202(54), (C39) epi-a-cadinol, (C40) epi-a-murolol, (C41) δ -cadinol, (C42) 202M+ 69(75); 91(74); 93(84); 95(100); 109(63); 132(79); 202(57), (C43) ar-turmerona, (C44) 202M+ 67(60); 69(99); 91(69); 93(71); 95(100); 109(71); 132(59); 202(71), (C45) α -cadinol, (C46) 218M+ 83(100); 105(93); 120(63), (C47) 220M+ 67(69); 91(60); 93(52); 109(100); 120(65), (C48) 204M+ 81(61); 105(72); 161(100). P=parental feminino. IRC: Índice de retenção na coluna RTX-SMS calculados de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963); IRL: Índice de retenção segundo Adams (2017).

Tabela 3. Constituintes químicos (C01 a C48) do óleo essencial de progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* colhidos na época chuvosa (Junho/2019) em São Cristóvão-SE.

Progênies	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24
VCUR-503 (P)	0,59	15,11	0,00	0,92	2,60	0,96	6,81	0,82	19,27	0,00	2,23	0,00	0,00	9,15	0,59	0,00	0,00	7,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-01	0,14	10,36	0,00	0,27	2,18	0,00	0,26	0,43	8,83	0,00	2,35	0,00	0,00	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-02	0,00	6,73	0,20	0,45	1,93	0,00	3,28	0,24	7,56	0,00	1,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-06	0,00	3,13	0,14	0,09	3,89	0,65	5,63	0,00	18,45	0,00	6,84	0,20	0,00	1,34	1,56	0,00	0,00	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-12	0,33	9,64	0,37	0,88	4,61	0,55	3,21	0,65	8,26	0,00	2,74	0,00	0,00	2,12	0,00	0,00	8,75	0,00	1,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-13	0,24	8,95	0,00	0,79	0,92	0,58	0,91	0,52	8,77	0,00	2,99	0,00	0,00	4,85	1,44	0,00	0,00	0,00	2,58	0,00	0,00	4,68	0,00	0,00
VCUR-503-14	0,36	9,23	0,00	0,78	0,56	0,37	0,88	1,99	12,50	0,00	4,24	0,00	0,00	2,05	1,44	0,00	0,00	0,00	2,07	0,00	0,00	7,88	0,00	0,00
VCUR-503-15	0,19	8,46	0,00	0,22	3,28	0,00	4,32	0,00	17,76	0,97	7,90	0,00	0,00	3,79	0,88	0,00	0,00	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	3,90	0,00
VCUR-503-23	0,24	6,89	0,45	0,56	2,18	0,13	5,28	0,00	18,55	0,00	6,22	0,00	0,00	7,77	0,00	0,00	5,91	0,00	5,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-25	0,15	10,37	0,32	0,57	2,48	0,23	0,52	0,87	19,24	0,00	5,69	0,00	0,00	2,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,80	0,00	0,00
VCUR-503-26	0,55	15,30	0,70	0,47	4,41	0,46	1,24	0,75	16,33	0,00	3,24	0,00	0,00	3,66	0,93	0,00	0,00	2,66	0,00	0,00	0,00	4,84	0,00	0,00
VCUR-503-30	0,07	1,64	1,00	0,06	0,21	0,21	0,62	0,71	19,95	0,00	3,03	1,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,36	0,00
VCUR-503-31	0,15	1,74	0,37	0,59	0,32	0,42	0,96	0,37	24,91	0,00	7,75	0,00	0,00	3,68	0,00	4,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,12	0,00	0,00
VCUR-503-32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,58	6,26	0,00	2,55	0,00	1,89	0,30	0,00	0,00	0,00	4,00	0,00	8,38	0,00	0,00	0,00	4,56
VCUR-503-34	0,35	3,18	0,59	0,48	4,18	0,67	0,82	0,00	9,28	0,00	2,90	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	1,02	0,00	0,00	1,72	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-35	0,55	8,99	0,73	0,34	0,25	0,00	5,26	0,00	22,16	0,00	2,27	0,00	0,00	5,27	0,00	0,00	0,00	5,16	1,89	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-36	0,70	17,52	0,36	0,95	2,16	0,87	0,16	0,08	13,08	0,00	1,64	0,11	0,00	1,29	0,00	0,00	0,00	2,05	0,00	0,00	0,00	1,24	0,00	0,00
VCUR-503-42	0,00	4,17	25,13	0,30	0,30	0,00	0,60	0,00	0,00	14,01	4,27	0,00	0,00	0,00	1,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00
VCUR-503-43	0,00	26,05	0,69	0,50	0,37	0,15	0,00	0,00	14,81	0,00	4,65	0,00	0,00	5,35	0,37	0,00	0,00	9,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-45	0,00	7,51	0,38	0,11	0,36	0,00	0,91	0,00	19,07	0,00	2,16	0,00	0,00	0,16	2,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,04	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-47	0,00	10,00	0,40	0,43	0,08	0,00	0,40	0,51	7,28	0,70	1,71	0,00	0,00	2,38	0,43	0,00	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-49	0,00	12,06	0,42	0,15	5,35	0,35	2,11	0,00	15,89	0,00	2,60	0,00	0,00	5,15	1,53	0,00	0,00	6,93	0,00	0,00	0,00	5,28	0,00	0,00
VCUR-503-50	0,49	5,26	0,80	0,15	0,88	0,77	4,41	0,00	24,09	0,00	5,30	2,36	0,00	0,40	1,55	0,00	0,00	17,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-51	0,87	9,23	0,76	0,88	4,17	0,00	0,18	0,16	14,93	0,00	4,67	0,00	0,00	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-52	0,70	9,26	0,39	0,31	0,58	0,00	0,76	0,64	12,36	0,00	3,58	0,00	0,00	2,67	0,78	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	0,00	3,68	0,00	0,00
VCUR-503-53	0,07	15,04	0,45	1,23	3,68	0,90	0,76	0,82	15,10	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,00	2,58	0,00	0,00	2,44	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-58	0,00	0,17	1,90	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	4,24	0,00	4,65	0,00	0,00	1,34	3,27	0,00	0,00	3,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-60	0,25	10,62	0,00	0,66	1,50	0,16	0,89	0,00	16,13	0,00	3,89	0,00	0,00	2,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-66	0,16	10,59	0,23	0,21	1,91	0,55	0,92	0,48	5,82	0,00	1,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,55	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-70	0,41	11,49	0,52	0,43	2,87	0,64	2,86	0,00	21,17	0,00	2,19	0,00	0,00	12,53	0,00	0,00	0,00	0,00	3,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-71	0,41	8,08	0,00	0,40	0,90	0,00	0,53	0,47	20,87	0,00	0,00	0,00	0,00	5,88	0,00	0,00	0,00	0,00	1,36	0,00	0,00	3,67	0,00	0,00
VCUR-503-74	0,69	17,81	1,03	2,92	8,64	0,67	0,41	0,37	8,10	0,00	4,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,78	0,00	0,00	3,85	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-75	0,00	6,59	0,34	0,78	3,91	0,53	4,79	0,11	7,22	0,00	2,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-81	0,00	8,85	0,00	1,31	0,89	0,21	0,10	0,22	14,03	0,00	6,67	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	0,00	4,16	0,00	0,00
VCUR-503-88	0,00	3,84	0,00	1,55	3,27	0,00	1,50	0,34	13,73	0,00	3,14	0,00	0,00	2,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00
VCUR-503-89	0,65	15,22	0,39	1,90	2,07	0,64	4,69	0,66	6,01	0,00	0,38	0,00	0,00	1,23	0,00	0,00	0,00	3,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-91	0,00	7,42	0,36	1,42	0,10	0,20	3,74	0,00	16,28	0,00	1,89	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	2,52	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-101	0,20	12,12	0,15	0,49	2,96	0,53	1,89	0,27	4,07	0,00	1,06	0,00	0,00	1,53	0,00	0,00	5,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-116	0,46	11,44	0,35	0,88	2,94	0,55	1,99	0,55	5,91	0,00	1,13	0,00	0,00	1,70	0,00	0,00	6,46	0,00	1,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-119	0,00	5,15	0,00	0,00	0,29	0,00	0,58	0,14	10,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	2,29	0,00	0,00
IRL	917	929	942	967	971	1173	1334	1409	1423	1424	1446	1460	1482	1483	965	977	1489	1498	1510	1511	1513	989	1515	1518
IRC	926	932	946	969	974	1774	1335	1409	1417	1434	1452		1487	1484	926			1500	1511		1528	926		

Compostos: (C01) triciclono, (C02) α -pineno, (C03) canfeno, (C04) sabineno, (C05) β -pineno, (C06) terpinen-4-ol, (C07) δ -elemeno, (C08) α -gurjuneno, (C09) *E*-cariofileno, (C10) γ -elemeno, (C11) α -humuleno, (C12) 204M+ 105(54); 161(100), (C13) α -zingibereno, (C14) germacreno D, (C15) β -selineno, (C16) 204M+ 91(50); 93(90); 105(100); 107(53); 121(83); 161(66), (C17) 204M+ 91(50); 93(96); 105(81); 107(68); 119(52); 121(100); 161(51) (C18) biciclogermacreno, (C19) δ -amorfenno, (C20) 222M+ 41(65); 55(50); 69(57); 81(100); 93(67); 121(60); 161(66), (C21) cis-calameneno, (C22) trans-calameneno, (C23) 202M+ 159(100), (C24) 222M+ 41(53); 81(100); 93(59); 105(52); 121(64); 161(83). IRC: Índice de retenção na coluna RTX-SMS calculados de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963); IRI: Índice de retenção segundo Adams (2017).

Tabela 3. Continuação.

Progenies	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C34	C35	C36	C37	C38	C39	C40	C41	C42	C43	C44	C45	C46	C47	C48
VCUR-503 (P)	2,78	0,00	0,00	0,00	0,00	1,29	0,00	1,03	8,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,51	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	53,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-02	2,92	0,00	0,00	0,00	0,00	2,04	0,00	0,00	44,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,56	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-06	2,44	0,00	0,00	0,00	9,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,11	0,00	0,00	28,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	1,14	1,91	0,00	0,00	1,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	2,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,91	0,75	5,03	0,00	0,00	0,00	0,00	6,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	5,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,09	0,86	0,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-26	1,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,84	7,95	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,82	31,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,02	1,03	2,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,78	0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-32	0,00	0,00	4,24	0,00	0,00	0,00	0,00	2,13	0,00	22,47	2,64	4,87	0,00	1,44	0,00	0,00	0,00	0,00	5,55	0,00	0,00	0,00	2,23	0,00
VCUR-503-34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,23	56,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,44	10,60	0,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,13	0,00	0,00	40,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,83	0,00	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-43	2,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	48,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26
VCUR-503-47	0,00	1,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	47,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,29	13,30	1,47	4,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,00	9,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	43,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	9,91	0,89	3,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53	18,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-58	0,00	0,00	0,00	3,23	0,00	1,28	0,00	3,67	0,00	0,00	0,00	0,00	7,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,26	4,03	0,00	17,35	1,57	0,00
VCUR-503-60	3,27	0,00	0,00	0,00	0,00	1,36	0,00	0,00	37,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	59,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-70	0,00	0,00	0,00	0,00	12,38	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,05	12,88	0,88	3,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,76	16,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-75	1,82	0,00	0,00	0,00	0,00	1,02	0,00	0,00	40,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,82	34,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,71	43,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-89	2,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	41,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	36,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-101	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,42	0,00	0,00	35,25	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-116	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,74	0,00	0,00	30,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCUR-503-119	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,46	54,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IRL	1522	1528	1548	1567	1575	1582	1586	1588	1603	1607	1612	1623	1624	1628	1634	1646	1649	1649	1650	1654	1657	1663	1680	1690
IRC	1522	1522		1582		1577	1590	1582	1592	1621					1635	1640	1652		1668		1652			

Compostos: (C25) δ -cadineno, (C26) β -cadineno, (C27) 220M+ 41(80); 55(50); 67(52); 69(65); 79(55); 81(99); 93(83); 95(58); 107(100); 108(61); 150(63); 220(64), (C28) ar-turmerol, (C29) 222M+ 81(64); 105(62); 161(100), (C30) espatulenol, (C31) globulol, (C32) óxido de cariofileno, (C33) viridiflorol, (C34) 7-ciclodocen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil), (C35) 204M+ 43(63); 81(73); 105(72); 161(100); 189(53); 204(75), (C36) 220M+ 42(100); 159(84); 162(77), (C37) 220M+ 41(100); 55(65); 67(85); 79(60); 81(56); 82(54); 91(82); 93(64); 95(81); 105(54); 107(52); 109(62); 119(60); 136(61), (C38) 202M+ 41(53); 43(69) 55(56); 67(87); 77(64); 79(78); 91(96); 93(100); 105(55); 109(80); 145(54); 187(62); 202(54), (C39) epi-a-cadinol, (C40) epi-a-murolol, (C41) δ -cadinol, (C42) 202M+ 69(75); 91(74); 93(84); 95(100); 109(63); 132(79); 202(57), (C43) ar-turmerona, (C44) 202M+ 67(60); 69(99); 91(69); 93(71); 95(100); 109(71); 132(59); 202(71), (C45) α -cadinol, (C46) 218M+ 83(100); 105(93); 120(63), (C47) 220M+ 67(69); 91(60); 93(52); 109(100); 120(65), (C48) 204M+ 81(61); 105(72); 161(100). P=parental feminino. IRC= Índice de retenção na coluna RTX-5MS calculados de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963); IRL: Índice de retenção segundo Adams (2017).

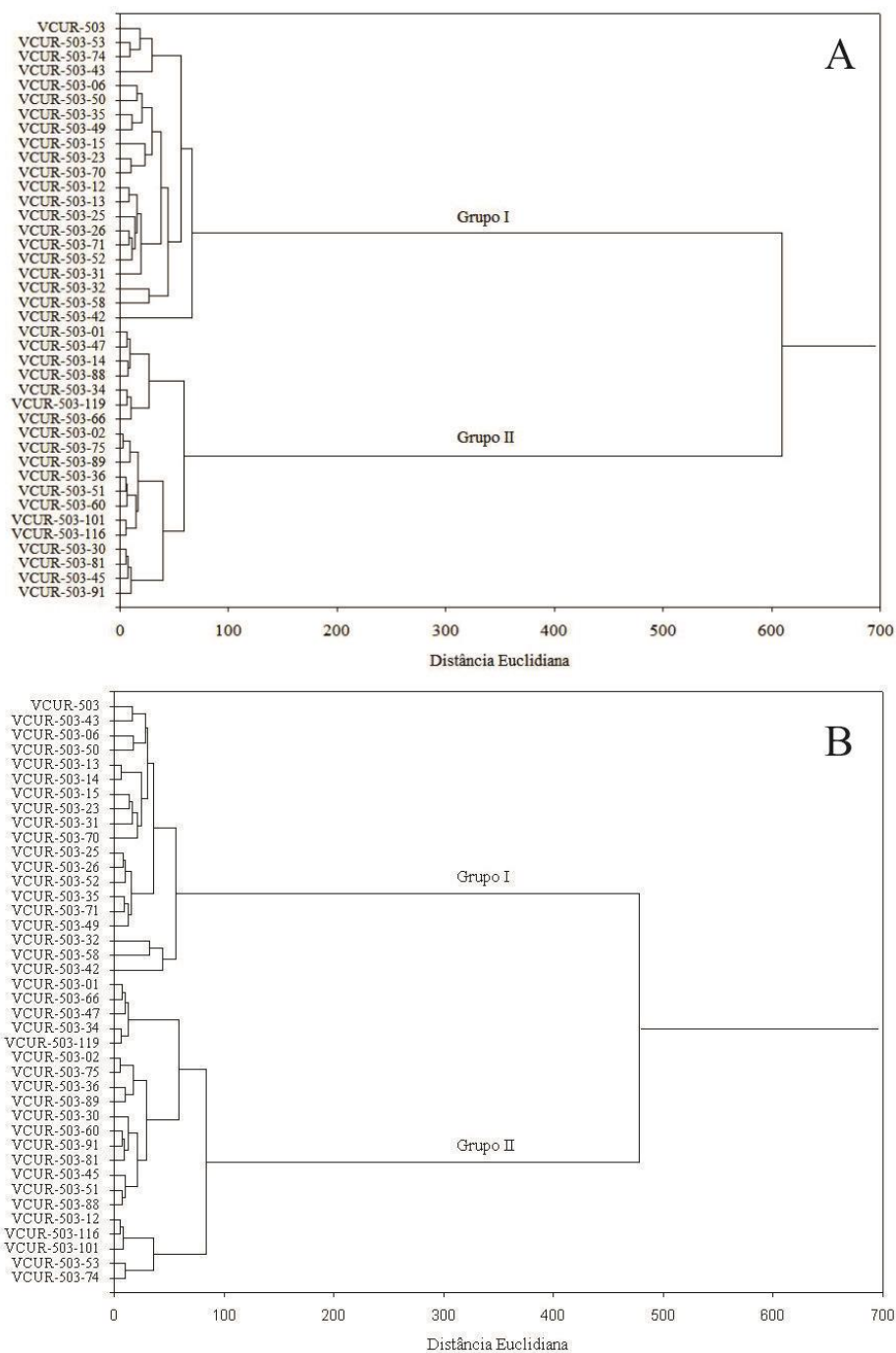


Figura 2. Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre parental e progênes de meios-irmãos do programa de melhoramento de *Varronia curassavica* da UFS, para a composição química do óleo essencial na época seca (A) e chuvosa (B).

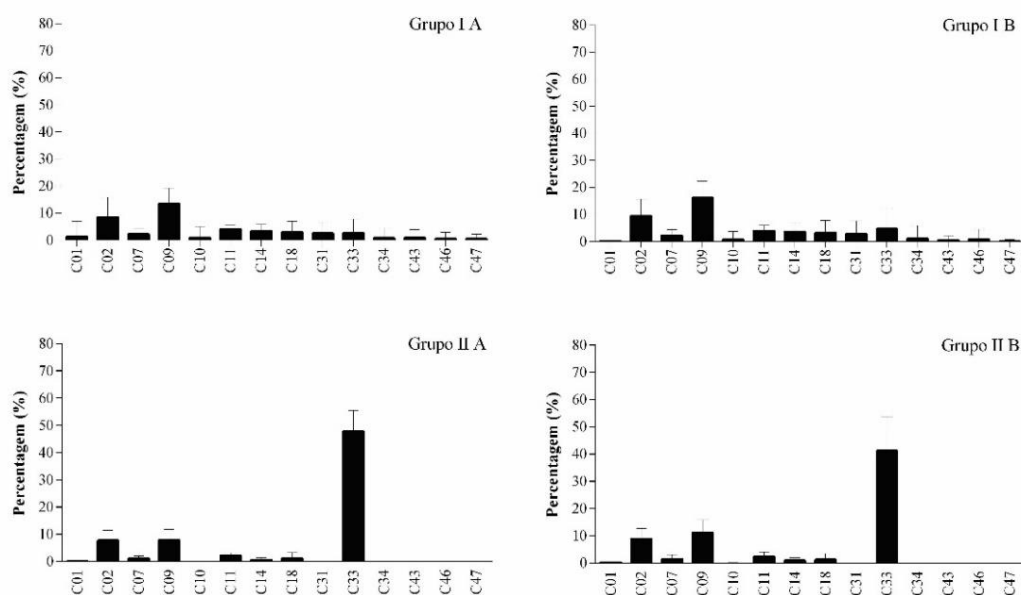


Figura 3. Média dos principais constituintes do óleo essencial do parental e progênie de meios-irmãos de *Varronia curassavica* de acordo com os grupos I e II formados nas épocas seca (A) e chuvosa (B). Compostos: (C01) triciclano, (C02) α -pineno, (C07) δ -elemeno, (C09) *E-cariofileno*, (C10) γ -elemeno, (C11) α -humuleno, (C14) germacreno D, (C18) biciclogermacreno, (C31) globulol, (C33) viridiflorol, (C34) 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil), (C43) ar-turmerona, (C46) 218M+ 83(100); 105(93); 120(63), (C47) 220M+ 67(69); 91(60); 93(52); 109(100); 120(65).

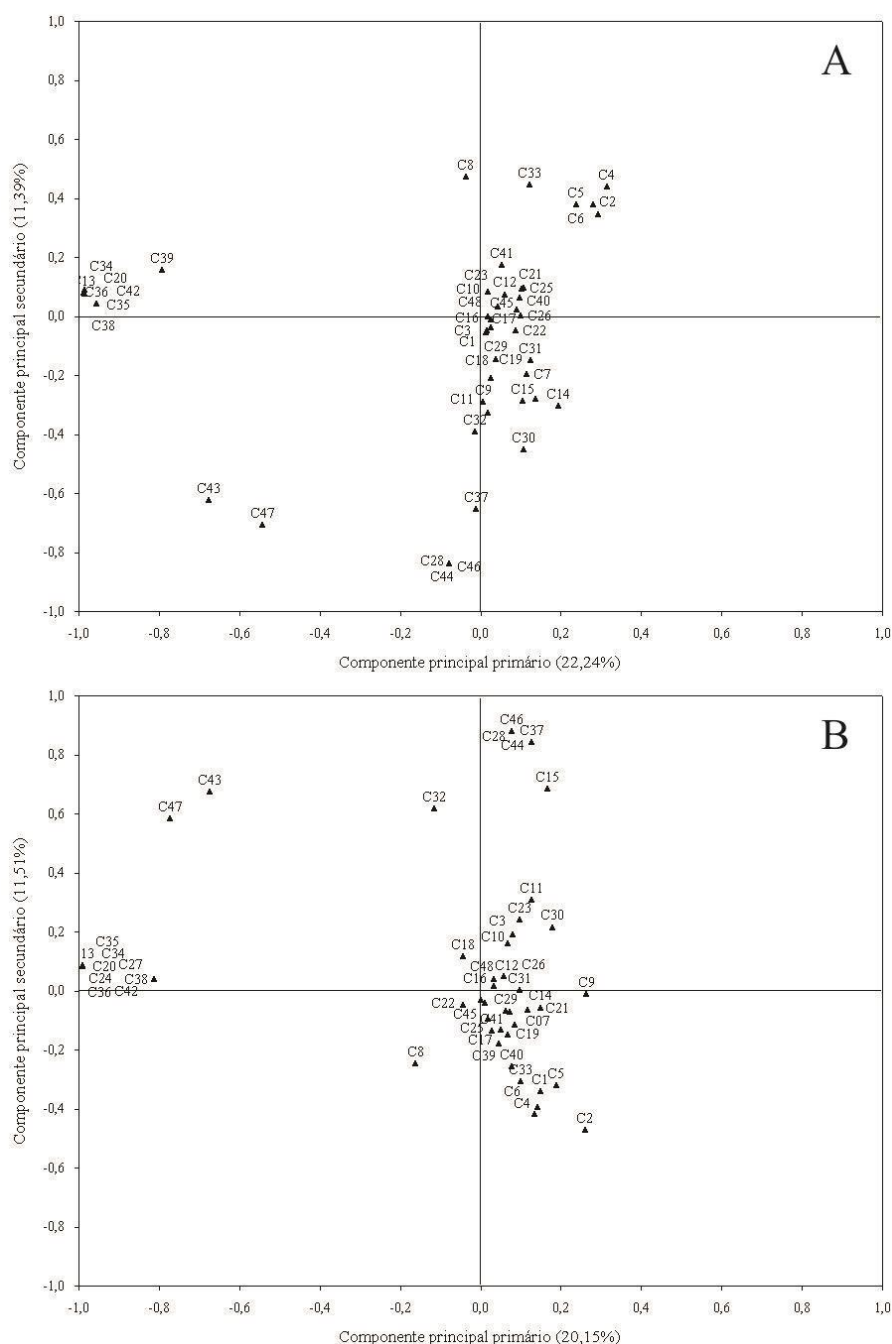


Figura 4. Distribuição dos constituintes químicos do óleo essencial do parental e progênes de meios-irmãos de *Varronia curassavica* em relação aos dois componentes principais através da análise de componente principal (ACP) para as épocas seca (A) e chuvosa (B). (C01) triciclono, (C02) α -pineno, (C03) canfeno, (C04) sabineno, (C05) β -pineno, (C06) terpinen-4-ol, (C07) δ -elemeno, (C08) α -gurjuneno, (C09) *E-cariofileno*, (C10) γ -elemeno, (C11) α -humuleno, (C12) 204M+ 105(54); 161(100), (C13) α -zingibereno, (C14) germacreno D, (C15) β -selineno, (C16) 204M+ 91(50); 93(90); 105(100); 107(53); 121(83); 161(66), (C17) 204M+ 91(50); 93(96); 105(81); 107(68); 119(52); 121(100); 161(51) (C18) biciclogermacreno, (C19) δ -amorfenno, (C20) 222M+ 41(65); 55(50); 69(57); 81(100); 93(67); 121(60); 161(66), (C21) cis-calameneno, (C22) trans-calameneno, (C23) 202M+ 159(100), (C24) 222M+ 41(53); 81(100); 93(59); 105(52); 121(64); 161(83), (C25) δ -cadineno, (C26) β -cadineno, (C27) 220M+ 41(80); 55(50); 67(52); 69(65); 79(55); 81(99); 93(83); 95(58); 107(100); 108(61); 150(63); 220(64), (C28) ar-turmerol, (C29) 222M+ 81(64); 105(62); 161(100), (C30) espatulenol, (C31) globulol, (C32) óxido de cariofileno, (C33) viridiflorol, (C34) 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil), (C35) 204M+ 43(63); 81(73); 105(72); 161(100); 189(53); 204(75), (C36) 220M+ 42(100); 159(84); 162(77), (C37) 220M+ 41(100); 55(65); 67(85); 79(60); 81(56); 82(54); 91(82); 93(64); 95(81); 105(54); 107(52); 109(62); 119(60); 136(61), (C38) 202M+ 41(53); 43(69) 55(56); 67(87); 77(64); 79(78); 91(96); 93(100); 105(55); 109(80); 145(54); 187(62); 202(54), (C39) epi-a-cadinol, (C40) epi-a-muurolol, (C41) δ -cadinol, (C42) 202M+ 69(75); 91(74); 93(84); 95(100); 109(63); 132(79); 202(57), (C43) ar-turmerona, (C44) 202M+ 67(60), 69(99); 91(69); 93(71); 95(100); 109(71); 132(59); 202(71), (C45) α -cadinol, (C46) 218M+ 83(100); 105(93); 120(63), (C47) 220M+ 67(69); 91(60); 93(52); 109(100); 120(65), (C48) 204M+ 81(61); 105(72); 161(100).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A água residual liofilizada obtida no processo de hidrodestilação do óleo essencial de *V. curassavica* apresenta toxicidade sobre o protozoário *I. multifiliis*. A exposição das folhas e inflorescências a altas temperaturas favorece a liberação de metabolitos secundários de alto peso molecular, como os flavonóides e ácidos fenólicos, que apresentam efeito biocida sobre esse parasita. Esse subproduto da destilação expressa potencialidades para uso alternativo no controle desse protozoário.

A obtenção de progênies de meios-irmãos proporcionou a melhoria das características agronômicas, químicas e de atividade antiprotozoária em relação ao parental feminino VCUR-503. Esse processo proporcionou a elevação dos teores dos compostos *E-cariofileno* e viridiflorol como também sua atividade antiprotozoária sobre *I. multifiliis*. As progênies pertencentes ao grupo II apresentam maiores teores desses dois compostos e algumas são promissoras para serem exploradas economicamente. O sinergismo entre os compostos *E-cariofileno* e viridiflorol foi confirmado, assim como foi possível inferir que outros compostos atuam de modo antagônico a esses.

A época seca favoreceu maior produção de óleo essencial para algumas progênies de meios-irmãos. Porém, para a maioria delas, a época de colheita não afetou o teor e o rendimento de óleo essencial. As progênies de meios-irmãos VCUR-503-01, VCUR-503-02, VCUR-503-45, VCUR-503-66, VCUR-503-88 e VCUR-503-119 apresentam características agronômicas e químicas promissoras como futuras cultivares no programa de melhoramento de *V. curassavica*. A composição química dos óleos essenciais apresentou certa estabilidade nas épocas avaliadas para a grande maioria das progênies. Para a grande maioria das progênies não foi observada mudança drástica no teor dos compostos majoritários.

ANEXOS

TABELA 1A. Resumo da análise de variância para as variáveis largura (LF), comprimento (CF) da folha, comprimento do pecíolo (CP), área foliar (AF) e comprimento do internódio (CI) de progênies de meios-irmãos e parental materno de *Varronia curassavica*.

FV	GL	QM				
		LF	CF	CP	AF	CI
Tratamento	88	2,0077*	12,4000*	0,2350*	12792,9555*	6,4435*
Bloco	2	0,3166*	4,3053*	0,0001 ^{ns}	2,3518*	1,1760*
Erro	176	0,0011	0,5550	0,0004	0,0240	0,1596
Total	266					
CV(%)		0,81	2,1	2,9	0,07	7,39
Média geral		4,16	11,2078	0,767	22,85	5,4043

*Significativo a 5% pelo teste F

ns Não significativo a 5% pelo teste F

TABELA 2A. Resumo da análise de variância para as variáveis teor (TOE) e rendimento (ROE) de óleo essencial de progênies de meios-irmãos e parental materno de *Varronia curassavica*.

FV	GL	QM	
		TOE	ROE
Tratamento	72	0,4875*	3,7048*
Bloco	2	0,0038 ^{ns}	0,0153 ^{ns}
Erro	144	0,0131	0,0533
Total	218		
CV(%)		8,85	8,17
Média geral		1,29	2,83

*Significativo a 5% pelo teste F

ns Não significativo a 5% pelo teste F

TABELA 3A. Resumo da análise de variância para atividade antiprotozoária de óleo essencial de 5 progênies e parental de *Varronia curassavica*.

FV	GL	QM Mortalidade
Tratamento	5	927,0333*
Bloco	2	27,1667 ^{ns}
Erro	10	146,9000
Total	17	
CV(%)		26,07
Média geral		1,29

*Significativo a 5% pelo teste F

ns Não significativo a 5% pelo teste F

TABELA 4A. Resumo da análise de variância para teor (TOE) e rendimento (ROE) de óleo essencial de progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* colhidas em duas épocas.

FV	GL	QM	
		TOE	ROE
Genótipo	39	0,6350*	6,3732*
Erro 1	80	0,0108	0,0527
Epoca	1	1,3877*	2,4361*
Genotipo x Epoca	39	0,0666*	1,5477*
Erro 2	80	0,0106	0,0688
CV1(%)		8,74	8,00
CV2(%)		8,66	9,14
Média geral		1,18	2,87

*Significativo a 5% pelo teste F

ns Não significativo a 5% pelo teste F

TABELA 5A. Resumo da análise de variância para o desdobramento de genótipo dentro de cada época para as variáveis teor (TOE) e rendimento (ROE) de óleo essencial de progênies de meios-irmãos de *Varronia curassavica* colhidas em duas épocas.

FV	GL	QM	
		TOE	ROE
Genotipo dentro de seca	39	0,4659*	4,3076*
Genotipo dentro de chuva	39	0,2357*	3,4418*
Erro	84	0,0106	0,0608

*Significativo a 5% pelo teste F

ns Não significativo a 5% pelo teste F

TABELA 6A. Resumo da análise de variância para o desdobramento de época dentro de cada progênie de meios-irmãos para as variáveis teor (TOE) e rendimento (ROE) de óleo essencial de *Varronia curassavica* colhidas em duas épocas.

FV	GL	QM	
		TOE	ROE
Epoca dentro de VCUR-503	1	0,0840*	0,2400 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-01	1	0,0561*	6,8694*
Epoca dentro de VCUR-503-02	1	0,4108*	0,5400*
Epoca dentro de VCUR-503-06	1	0,0000 ^{ns}	0,6868*
Epoca dentro de VCUR-503-12	1	0,0522*	0,1536 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-13	1	0,1872*	0,0016 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-14	1	0,1232*	0,0308 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-15	1	0,1633*	0,1908 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-23	1	0,0032 ^{ns}	0,0140 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-25	1	0,0000 ^{ns}	0,5104*
Epoca dentro de VCUR-503-26	1	0,0037 ^{ns}	1,8592*
Epoca dentro de VCUR-503-30	1	1,3632*	16,2032*
Epoca dentro de VCUR-503-31	1	0,0308 ^{ns}	0,4213*
Epoca dentro de VCUR-503-32	1	0,1232*	0,2053 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-34	1	0,0560*	1,9608*
Epoca dentro de VCUR-503-35	1	0,0000 ^{ns}	0,4648*
Epoca dentro de VCUR-503-36	1	0,0032 ^{ns}	2,8016*
Epoca dentro de VCUR-503-42	1	0,0130 ^{ns}	0,0704 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-43	1	0,0032 ^{ns}	2,3437*
Epoca dentro de VCUR-503-45	1	0,0888*	1,0333*
Epoca dentro de VCUR-503-47	1	0,0294 ^{ns}	4,0344*
Epoca dentro de VCUR-503-49	1	0,0032 ^{ns}	0,2400 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-50	1	0,0032 ^{ns}	0,2440 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-51	1	0,0322 ^{ns}	1,4504*
Epoca dentro de VCUR-503-52	1	0,0130 ^{ns}	0,0988 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-53	1	0,0130 ^{ns}	0,0400 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-58	1	0,0096 ^{ns}	0,4428*
Epoca dentro de VCUR-503-60	1	0,1261*	6,8480*
Epoca dentro de VCUR-503-66	1	0,0840*	0,0020 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-70	1	0,0522*	0,0937 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-71	1	0,0280 ^{ns}	0,0400 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-74	1	0,0840*	2,5610*
Epoca dentro de VCUR-503-75	1	0,2773 ^{ns}	1,7280*
Epoca dentro de VCUR-503-81	1	0,0000*	4,8240*
Epoca dentro de VCUR-503-88	1	0,0522*	0,9283 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-89	1	0,0541 ^{ns}	0,0620*
Epoca dentro de VCUR-503-91	1	0,0140*	1,0500*
Epoca dentro de VCUR-503-101	1	0,1700*	0,5891*
Epoca dentro de VCUR-503-116	1	0,1700*	0,0840 ^{ns}
Epoca dentro de VCUR-503-119	1	0,0032 ^{ns}	0,8362*
Erro	80	0,0105	0,0608

*Significativo a 5% pelo teste F

Ns: Não significativo a 5% pelo teste F