



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA

Estudo fitoquímico, genético e atividade antifúngica do óleo
essencial de *Myrcia lundiana* Kiaersk.

Mércia Freitas Alves

São Cristóvão/Sergipe

Fevereiro/2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Estudo fitoquímico, genético e atividade antifúngica do óleo
essencial de *Myrcia lundiana* Kiaersk.

Mércia Freitas Alves

Arie Fitzgerald Blank - Orientador

Samísia Maria Fernandes Machado - Co-orientadora

Tese apresentada à Universidade
Federal de Sergipe/RENORBIO para
obtenção do título de Doutor em
Biotecnologia

São Cristóvão/Sergipe

Fevereiro/2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Alves, Mércia Freitas

A474e Estudo fitoquímico, genético e atividade antifúngica do óleo
essencial de *Myrcia lundiana* Kiaersk / Mércia Freitas Alves;
orientador Arie Fitzgerald Blank. – São Cristóvão, 2017.

95 f. : il.

Tese (doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de
Biotecnologia – RENORBIO, Universidade Federal de Sergipe,
2017.

1. Biotecnologia. 2. *Myrcia lundiana*. 3. Essências e óleos
essenciais. 4. Micro-organismos fitopatogênicos. I. Blank, Arie
Fitzgerald, orient. II. Título.

CDU 606:582.776.2

MÉRCIA FREITAS ALVES

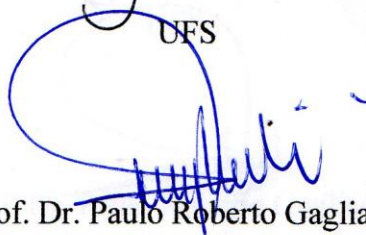
ESTUDO FITOQUÍMICO, GENÉTICO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA
DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Myrcia lundiana* KIAERSK.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2017.



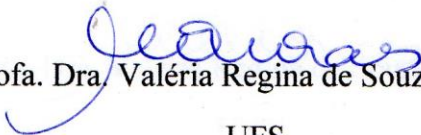
Profa. Dra. Sheila Valéria Alvares Carvalho

UFS



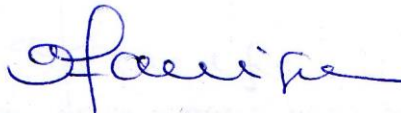
Prof. Dr. Paulo Roberto Gagliardi

UFS



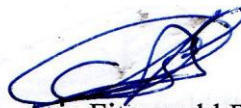
Profa. Dra. Valéria Regina de Souza Moraes

UFS



Profa. Dra. Maria de Fátima Arrigoni Blank

UFS



Prof. Dr. Arie Fitzgerald Blank

Orientador

A Deus,

Que nunca me desampara, que sempre me mostra o melhor caminho a seguir e que mesmo ao fazer o caminho errado, me acolhe e estende sua mão para recomeçar mesmo na desesperança.

OFEREÇO

A minha mãe Lenita, que sempre esteve ao meu lado e nunca me abandonou nos meus sonhos mais difíceis.

DEDICO

Ao meu filhinho de quatro patas amado, que durante toda a jornada esteve comigo até altas horas da madrugada enquanto eu estudava e escrevia. Seu amor por mim parece coisa de outro mundo, só quem tem um amor assim entende o nosso.

AGRADEÇO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Sergipe, aqui fiz graduação, mestrado e finalizo meu doutorado com a certeza do quanto você cresceu e me proporcionou os melhores anos de minha vida.

Ao CNPq, CAPES, FAPITEC/SE e RENORBIO pelo apoio financeiro;

A Deus

Como o senhor sempre sabe toda a angústia e sofrimento dos seus, obrigada por nunca me abandonar e sempre me dar força nessa jornada complicada.

A minha Família...

À minha mãe por nunca me abandonar e sempre apoiar meus sonhos de estudo e está ali comigo até para minhas viagens malucas de conhecimento. Obrigada por ter me proporcionado a melhor coisa que uma mãe pode dar ao filho: o direito a educação.

À minha irmã por sempre me incentivar, pelo seu carinho quando precisei e por nunca me abandonar nas minhas aflições.

As minhas sobrinhas, por toda alegria que trazem à minha vida.

A todas as tias e tios, que sempre torceram por mim, primos e primas, amo vocês!

Orientação...

Ao meu orientador, pai, conselheiro, amigo e torcedor prof. Dr Arie Fitzgerald Blank, obrigada por ter me recebido no mestrado mesmo sem me conhecer, obrigada por ter acreditado em mim, obrigada por chamar minha atenção no canto para que eu entendesse que aquilo era para o meu bem e por mostrar o quanto se preocupa comigo, não só profissionalmente, como também emocionalmente, o último ano foi muito difícil para mim e sabia que o senhor estava ali e se preocupava comigo como um pai se preocupa com uma filha. Obrigada por tudo, espero ser 10% do que você representa em minha vida para algum aluno um dia.

A minha mãe acadêmica, prof^ª Dr^ª Maria de Fátima Arrigoni Blank, por todo o apoio, sorriso no passar dos corredores, pelos conselhos dados em momentos de descontração e por nos fazer acreditar que na vida, amor e profissão pode andar lado a lado e dar muito sorte.

Aos parceiros

Ao prof. Dr. Paulo Gagliardi e a aluno Fábio, pelo auxílio nos experimentos com os fungos.

À prof^ª. Dr^ª. Samísia pela co-orientação.

À prof^ª. Dr^ª. Ana Veruska por me receber tão bem na EMBRAPA e me tornar parte de sua família.

À prof^ª. Dr^ª. Sheila, pela orientação e auxílio.

Ao técnico do laboratório de molecular da EMBRAPA, Silvio, valeu por toda ajuda, pelos papos descontraídos, por ter me recebido tão bem.

À todas as pessoas que trabalham no Parque Nacional da Serra de Itabaiana, obrigada por cuidar de mim mesmo sendo tão difícil trabalhar sem as devidas condições.

Grandes amigos...

Aos amigos do GPMACO e LTC pelo apoio, descontração e amizade, dos antigos aos atuais: Elizângela, Jéssika, Saymo, Alberto, Vanderson, José Carlos, Larissa, Thiago, Juliana, Marcelino, Camila, Alisson, Luís Fernando, Thays e Fran.

À Taís Sampaio, a você amiga que entrou no grupo e se tornou uma irmã para mim meu muito obrigada, nunca vou esquecer da sua comemoração ao saber da minha aprovação no pós-doc, o quanto você estava rezando por mim e por minha mãe durante todo o tempo, te amo minha amada irmã.

À Fabiany, que garota sensacional é você viu, tenho muito orgulho de ter me aproximado de você durante os longos dias da tal molecular e hoje poder dizer que você é uma grande amiga.

À Dani, o que falar de você amiga? Sensacional, obrigada por tudo, é até difícil falar de você, tudo que aprendi com você me tornou uma pessoa melhor, obrigada por esse carinho de mãe sempre, você nunca será esquecida por nenhum de nós do laboratório, que saudades estou de te encontrar sentada na sua mesinha.

Às amigas Magna e Andréa, pelos ensinamentos e conselhos.

Ao secretário da Renobio Emanuel, amigo você é fundamental nas nossas vidas.

Obrigada a todos!

" De todas as riquezas que recebi, a que mais agradeço é a instrução. Do que vale o dinheiro se nenhuma felicidade que ele possa me proporcionar pode se equiparar com a sabedoria que tenho recebido através dos livros. "

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS	2
2.1. Objetivo Geral	2
2.2. Objetivos Específicos	2
3. REFERENCIAL TEÓRICO	3
3.1. Origem e botânica de <i>Myrcia lundiana</i> Kiaersk	3
3.2. Diversidade química dos óleos essenciais de plantas aromáticas	4
3.3. Fungos Fitopatogênicos	7
3.4. Diversidade genética	9
3.5. Marcadores moleculares	10
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
CAPÍTULO I: POPULAÇÃO NATIVA DE <i>Myrcia lundiana</i> Kiaersk. POSSUI ÓLEO ESSENCIAL COM DIFERENTE COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	20
RESUMO	21
1. Introdução	22
2. Materiais e Métodos	23
2.1 Material vegetal	23
2.2 Extração e análise da composição química dos óleos essenciais	23
2.3 Atividade antifúngica	24
2.4 Análises estatísticas	25
3. Resultados	25
4. Discussão	27
5. Referências	29
CAPÍTULO II: ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO NATIVA DE <i>Myrcia lundiana</i> Kiaersk. UTILIZANDO MARCADORES ISSR	39
RESUMO	40
1. Introdução	41
2. Materiais e Métodos	42
2.1. Material vegetal	42
2.2. Extração do DNA e amplificação PCR-ISSR	42
2.3. Análise dos dados	43
3. Resultados	43
4. Discussão	44
5. Referências	47

CAPITULO III: ATIVIDADE ANTIFUNGICA DO OLEO ESSENCIAL DE QUIMIOTIPOS DE <i>Myrcia lundiana</i> Kiaersk. E SEUS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS SOBRE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS.....	55
Resumo	56
1. Introdução.....	57
2. Materiais e Métodos	58
2.1. Material vegetal e método de extração.....	58
2.2. Análises cromatográficas	58
2.3. Atividade antifúngica.....	59
2.4. Análises estatísticas.....	60
3. Resultados e Discussão.....	60
4. Conclusões.....	63
5. Referências	64
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERPECTIVAS	73
ANEXOS.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

CG-EM	Cromatografia em Fase Gasosa/Espectrometria de Massas
MLU	<i>Myrcia lundiana</i>
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
DIC	Detector por Ionização de Chama
IR	Índice de Retenção
IE	Ionização por Elétrons (<i>Flame ionization</i>)
Da	Dalton
eV	Elétron Volt
He	Hélio
m/z	Relação Massa/Carga
ACP	Análise de Componente Principal
A.B.D	Ágar Batata Dextrose (<i>Batata Dextrose Ágar</i>)
B.O.D	Demanda Bioquímica de Oxigênio (<i>Biochemical Oxygen Demand</i>)
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
D.P.M	Desvio Padrão da Média (<i>Mean Standard Deviation</i>)
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DMSO	Dimetilsulfóxido
PIC	Porcentual de Inibição do Crescimento
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
PCR	Reação em cadeia da polimerase

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
REFERENCIAL TEÓRICO	
1	3
Figura 1. Planta de <i>Myrcia lundiana</i> (A), detalhes do fruto (B) e da inflorescência (C)	
2	5
Esquema da biossíntese dos monoterpenos e sesquiterpenos.....	
3	7
Estruturas químicas dos principais monoterpenos presentes nos quimiotipos de <i>Myrcia lundiana</i> : (A) 1,8-cineol; (B): isopulegol; (C): Citral	
CAPÍTULO I	
1	36
Dendrograma bidimensional representando a similaridade entre 23 acessos de <i>Myrcia lundiana</i> para a composição química dos óleos essenciais	
2	37
Médias dos compostos químicos dos óleos essenciais de plantas <i>M. lundiana</i> , grupo I a III. (C2) β -pineno, (C4) 1,8-cineol, (C7) isopulegol, (C9) iso-isopulegol, (C14), neral, (C15), o geranial, o (C18) de ácido nerólico	
3	38
Distribuição dos compostos químicos do óleo essencial de 23 acessos de <i>M. lundiana</i> em relação aos componentes principais por meio da análise de componentes principais (ACP). (C1) α -pineno, (C2) β -pineno, (C3) <i>p</i> -cymeno, (C4) 1,8-cineol, (C5) linalol, (C6) neo isopulegol, (C7) isopulegol, (C8) citronelal, (C9) iso-isopulegol, (C10) neo iso-isopulegol, (C11) -terpinen-4-ol, (C12) α -terpineol, (C13) citronelol, (C14) neral, (C15) geranial, (C16) methyl nerolato, (C17) methyl<8-hidroxi-neo>, (C18) ácido nerólico, (C19) (E)-cariofileno, (C20) trans- α -bergamotene, (C21), α -salineno, (C22) β -salineno, (C23) óxido cariofileno e (C24) Z- α -trans-bergamoteno	
CAPÍTULO II	
1	52
Géis de agarose mostrando os perfis eletroforéticos de ISSR amplificada utilizando iniciadores UBC856, UBC823 e UBC835 a partir de uma população nativa de 28 plantas de <i>Myrcia lundiana</i> do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil	
2	53
Dendrograma gerado pela análise UPGMA dos índices de similaridade de Jaccard a partir de uma população nativa de 28 plantas de <i>Myrcia lundiana</i> do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe	
3	54
Resultados do STRUCTURE a partir de uma população nativa de 28 plantas de <i>Myrcia lundiana</i> do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil, com K = 3. Cada barra vertical representa uma	

adesão, com a cor indicando associação do grupo

CAPÍTULO III

- 1 Crescimento do diâmetro micelial em função do tempo para os óleos essenciais de quimiotipos de *M. lundiana* MLU-005, MLU-019, MLU-022 e seus compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral para o fungo *Fusarium pallidoroseum* 70
- 2 Crescimento do diâmetro micelial em função do tempo para os óleos essenciais de quimiotipos de *M. lundiana* MLU-005, MLU-019, MLU-022 e seus compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral para o fungo *Fusarium solani* 71
- 3 Crescimento do diâmetro micelial em função do tempo para os óleos essenciais de quimiotipos de *M. lundiana* MLU-005, MLU-019, MLU-022 e seus compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral para o fungo *Colletotrichum musae* 72

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
CAPÍTULO I		
1	Identificação de uma população nativa de 28 plantas de <i>Myrcia lundiana</i> do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil	32
2	Teor (%) dos compostos químicos do óleo essencial de plantas de <i>Myrcia</i> Compostos químicos dos óleos essenciais de plantas <i>M. lundiana</i> em Sergipe, Brasil	33
3	Coeficientes de correlação para os compostos químicos (C1 a C24) dos óleos essenciais de plantas <i>M. lundiana</i> em Sergipe, Brasil	34
4	Porcentagem de inibição do crescimento micelial (média \pm SEM) de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em função da concentração (v/v) de óleos essenciais de <i>Myrcia lundiana</i> , após 96 horas de incubação.....	35
CAPÍTULO II		
1	Identificação de uma população nativa de 28 plantas de <i>Myrcia lundiana</i> do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil	49
2	Temperatura de anelamento, sequência e os produtos amplificados utilizado para a análise de diversidade genética em <i>M. lundiana</i> a partir de uma população nativa do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil.....	50
3	Matriz gerada com base no coeficiente de similaridade de Jaccard a partir de uma população nativa de 28 plantas de <i>Myrcia lundiana</i> do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil.....	51
CAPÍTULO III		
1	Composição química dos óleos essenciais dos três quimiotipos de <i>M. lundiana</i> de acordo com Alves et al. (2016).....	67
2	Porcentagem de inibição do crescimento micelial (média \pm erro padrão da média) dos fungos fitopatogênicos <i>Fusarium pallidroseum</i> , <i>Fusarium solani</i> e <i>Colletotrichum musae</i> em função de concentrações dos óleos essenciais de três quimiotipos de <i>M. lundiana</i> , após 96 horas de incubação.....	68
3	Porcentagem de inibição do crescimento micelial (média \pm erro padrão da média) dos fungos <i>Fusarium pallidroseum</i> , <i>Fusarium solani</i> e <i>Colletotrichum musae</i> (em função dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de <i>Myrcia lundiana</i>), após 96 horas de incubação.....	69

RESUMO

ALVES, M. F. **Estudo fitoquímico, genético e atividade antifúngica do óleo essencial de *Myrcia lundiana* Kiaerk.** São Cristóvão: UFS. 110f. (Tese).

Os objetivos deste trabalho foi caracterizar quimicamente, avaliar a diversidade genética e a atividade antifúngica de plantas de *Myrcia lundiana* coletadas no Parque Nacional da Serra de Itabaiana, município de Areia Branca/SE. Os óleos essenciais de 23 plantas de *M. lundiana* foram obtidos por hidrodestilação e analisados por CG/MS-DIC. Vinte e quatro compostos foram identificados nas plantas de *M. lundiana*. Grande diversidade química foi observada entre as plantas de *M. lundiana* estudadas. Os compostos encontrados em maior quantidade foram ácido nerólico, neral, geranial, isopulegol, iso isopulegol, 1,8-cineol e β -pineno, que definiram a formação de três grupos de acordo com a composição química e análise de agrupamento. Avaliou-se a diversidade genética através do marcador molecular ISSR, entre 28 plantas de uma população nativa do Estado de Sergipe. Trinta e cinco primers foram testados, e 20 deles foram polimórficos, resultando em 135 bandas polimórficas e informativas. As plantas foram divididas em três grupos através da análise de agrupamento pela média aritmética não ponderada e análise de estrutura. Na matriz de similaridade de Jaccard houve variação de 0,15 a 0,87. As plantas MLU-014 e MLU-015 apresentaram baixa diversidade genética com índice de similaridade de 0,87. Por outro lado, os pares de plantas MLU-007 e MLU-019, apresentaram alta diversidade, com índice de similaridade de 0,15. A diversidade genética das plantas *M. lundiana* é intermediária, e sua expansão é necessária. As plantas MLU-026 e MLU-028 são as mais adequadas para a conservação desta espécie. Avaliou-se ainda as atividades antifúngica de formulações à base de óleo essencial de *M. lundiana* e seus compostos majoritários sobre os fungos fitopatogênicos *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae*. Para o fungo *F. pallidoroseum*, os quimiotipos MLU-005 e MLU-019) proporcionaram 100% de inibição do crescimento micelial a partir da concentração 1,1 mL/L (Concentração Inibitória Mínima – CIM). Para o quimiotipo (MLU-022) observou-se CIM de 0,2 mL/L, proporcionando melhor concentração fungicida mínima (CFM) de 0,3 mL/L. Para *F. solani*, os óleos essenciais dos quimiotipos (MLU-005 e MLU-019) apresentaram CIM nas concentrações de 7,0 e 5,0

mL/L. O óleo essencial do quimiotipo (MLU-022) apresentou CIM de 0,5 mL/L, com CFM de 0,6 mL/L. Observou-se CIM diferenciado para os três quimiotipos estudados para o fungo *C. musae*, variando de 0,4 mL/L para o quimiotipo MLU-005, 0,5 mL/L para o quimiotipo MLU-022 e 0,7 mL/L para o quimiotipo MLU-019, apresentando melhor CFM para o quimiotipo MLU-005 de 0,5 mL/L. Os óleos essenciais de três quimiotipos de *M. lundiana*: MLU-005, MLU-019 e MLU-022 e os compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral (neral + geranial) exibiram atividade antifúngica sobre os fungos testados. Os óleos essenciais de quimiotipos de *M. lundiana* e seus compostos majoritários apresentaram potencial para o controle dos fitopatógenos, podendo ser considerados como uma alternativa aos fungicidas, uma vez que em concentrações mais baixas apresentaram efeito inibitório e fungicida frente a estes organismos.

Palavras-chave: *Myrcia lundiana*, planta aromática, óleo essencial, ISSR, fitopatógenos.

ABSTRACT

ALVES, M. F. **Phytochemical, genetic and antifungal activity of *Myrcia lundiana* Kiaerk essential oil.** São Cristóvão: UFS. 110p. (Thesis).

The objectives of this study were to characterize chemically the essential oils, to evaluate the genetic diversity and the antifungal activity of *Myrcia lundiana* plants collected in Serra de Itabaiana National Park, Areia Branca Municipality / SE. The essential oils of 23 plants of *M. lundiana* were obtained by hydrodistillation and analyzed by GC/MS-FID. Twenty-four compounds were identified in *M. lundiana* plants. Great chemical diversity was observed among the *M. lundiana* plants studied. Great chemical diversity was observed among the *M. lundiana* plants studied. The compounds found in greater quantity were nerolic, neral, geranial, isopulegol, iso isopulegol, 1,8-cineol and β -pinene, which defined the formation of three groups according to the chemical composition and cluster analysis. Genetic diversity was evaluated through the molecular marker ISSR, among 28 plants of a native population of the State of Sergipe. Thirty-five primers were tested, and 20 of them were polymorphic, resulting in 135 polymorphic and informative bands. The plants were divided into three groups by cluster analysis, the unweighted arithmetic mean and structure analysis. In the matrix of similarity of Jaccard there was variation of 0.15 to 0.87. Plants MLU-014 and MLU-015 presented low genetic diversity with similarity index of 0.87. On the other hand, pairs of plants MLU-007 and MLU-019, presented high diversity, with a similarity index of 0.15. The genetic diversity of *M. lundiana* plants is intermediate, and its expansion is necessary. The MLU-026 and MLU-028 plants are the most suitable for the conservation of this species. The antifungal activities of formulations based on essential oil of *M. lundiana* and their major compounds on phytopathogenic fungi *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium pallidroseum*, *Fusarium solani* and *Colletotrichum musae* were also evaluated. For the fungus *F. pallidroseum*, the plants MLU-005 and MLU-019 provided 100% inhibition of mycelial growth from the concentration 1.1 mL/L (Minimum Inhibitory Concentration (MIC)). For the plant MLU-022, MIC of 0.2 mL/L was observed, providing a better minimum fungicidal concentration (MFC) of 0.3 mL/L. For *F. solani*, the essential oils of the plants MLU-005 and MLU-019 presented MICs at the concentrations of 7.0 and 5.0 mL/L. The

essential oil of plant MLU-022 had MIC of 0.5 mL/L, with MFC of 0.6 mL/L. Differentiated MIC was observed for the three studied chemotypes for fungus *C. musae*, ranging from 0.4 mL/L for chemotype MLU-005, 0.5 mL/L for chemotype MLU-022 and 0.7 mL/L for the MLU-019 chemotype, presenting better MFC for the MLU-005 chemotype of 0.5 mL/L. The essential oils of three *M. lundiana* chemotypes: MLU-005, MLU-019 and MLU-022 and the 1,8-cineol, isopulegol and citral (general + geranial) major compounds exhibited antifungal activity on the fungi tested. The essential oils of *M. lundiana* chemotypes and their major compounds have potential for the control of phytopathogens, and can be considered as an alternative to fungicides, since in lower concentrations they presented an inhibitory and fungicidal effect against these organisms.

Keywords: *Myrcia lundiana*, aromatic plant, essential oil, ISSR, phytopathogens.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Devido a megadiversidade existente no Brasil, muitas espécies florestais ainda não foram amplamente estudadas para comprovar seu potencial econômico. Nessas espécies é possível encontrar compostos naturais que vem sendo estudados devido as suas aplicações, química, molecular e fitopatológica. Dentre as espécies florestais aromáticas existentes no Brasil, destaca-se a *Myrcia lundiana* Kiaersk. É uma espécie originária das zonas tropicais e subtropicais do hemisfério sul, também conhecida como canela-de-tabuleiro ou limãozinho.

A espécie *M. lundiana* possui uma variação de compostos presentes no óleo essencial, tais como: 1,8 cineol, citral, isopulegol e ácido nerólico. O estudo dessa diversidade química e genética pode ser útil no estabelecimento de estratégias de conservação e melhoramento genético, além de auxiliar no estudo de outras potencialidades aromáticas, farmacológicas e fitopatológicas. Tal diversidade pode ser atribuída não só aos fatores genéticos, como também aos fatores ambientais bióticos e abióticos. Etapas de pós-colheita, como secagem e método de extração, podem também influenciar a composição química dos óleos essenciais e consequentemente suas propriedades biológicas.

Os óleos essenciais são de grande importância no mercado mundial, pois possibilita o desenvolvimento de novos produtos, sendo vastas as possibilidades de pesquisas com perspectivas em diferentes setores. Vários estudos vêm comprovando sua ação contra fungos fitopatogênicos, causando efeitos diversos sobre o metabolismo dos mesmos (BIZZO et al., 2009). Devido à demanda cada dia maior pela produção de alimentos e ao mesmo tempo a necessidade de alcançar a sustentabilidade ambiental, tornou-se vital a prospecção de novos compostos bioativos que sejam úteis no desenvolvimento de produtos alternativos que possam substituir os produtos sintéticos atualmente utilizados no controle de fitopatógenos.

Diante disso, os óleos essenciais, através de suas substâncias bioativas, apresentam-se como uma fonte alternativa para o controle de fitomoléstias (Thormar, 2012), atuando como fungicidas naturais (CHAO e YOUNG, 2000; MARQUES et al., 2004; DINIZ et al., 2008; SILVA et al., 2010).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterizar quimicamente, geneticamente e avaliar a atividade antifúngica de *Myrcia lundiana* coletadas no município de Areia Branca, Estado de Sergipe.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a diversidade química dos óleos essenciais de plantas de *Myrcia lundiana* coletadas no Estado de Sergipe;
- Identificar e caracterizar os grupos químicos formados a partir da análise de agrupamento e estabelecer as principais correlações entre os constituintes químicos;
- Avaliar a diversidade genética de plantas de *Myrcia lundiana* coletadas no Estado de Sergipe;
- Avaliar a atividade antifúngica de quimiotipos de *Myrcia lundiana* e dos seus compostos majoritários 1,8 cineol, citral, e isopulegol sobre os fungos *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae* *in vitro*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Origem e botânica de *Myrcia lundiana* Kiaersk.

Em Sergipe há relatos da existência de 10 gêneros e 60 espécies nativas, sendo a Mata Atlântica o centro de diversidade da espécie (SIQUEIRA et al., 1994; MARTINELLI e MORALES, 2013). A espécie *Myrcia lundiana* Kiaersk, popularmente conhecida por canela-de-tabuleiro e limãozinho é uma espécie da família Myrtaceae encontrada nas zonas tropicais e subtropicais do hemisfério sul (GOVAERTS et al., 2008).

Algumas espécies de *Myrcia* têm sido utilizadas na medicina popular como adstringentes, diuréticos, no tratamento do *Diabetes mellitus*, estancar hemorragias e no tratamento de hipertensão e úlceras (Cerqueira et al., 2009), além da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial de *Myrcia pubiflora* (ANDRADE et al., 2012). Relatos na literatura indicam atividade larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti* para as espécies *M. lundiana* e *M. guianensis* (FONTES et al., 2011).

M. lundiana é um arbusto de até 6 metros de altura, com ramos jovens e inflorescências avermelhado-pubescentes, tronco com casca laminada desfoliante em placas rígidas, deixando um aspecto liso, avermelhado. Possui épocas de floração de dezembro a junho; frutificação de abril a setembro. Sua estrutura não é observada com frequência em outras espécies (SOUZA et al., 2007) (Figura 1).

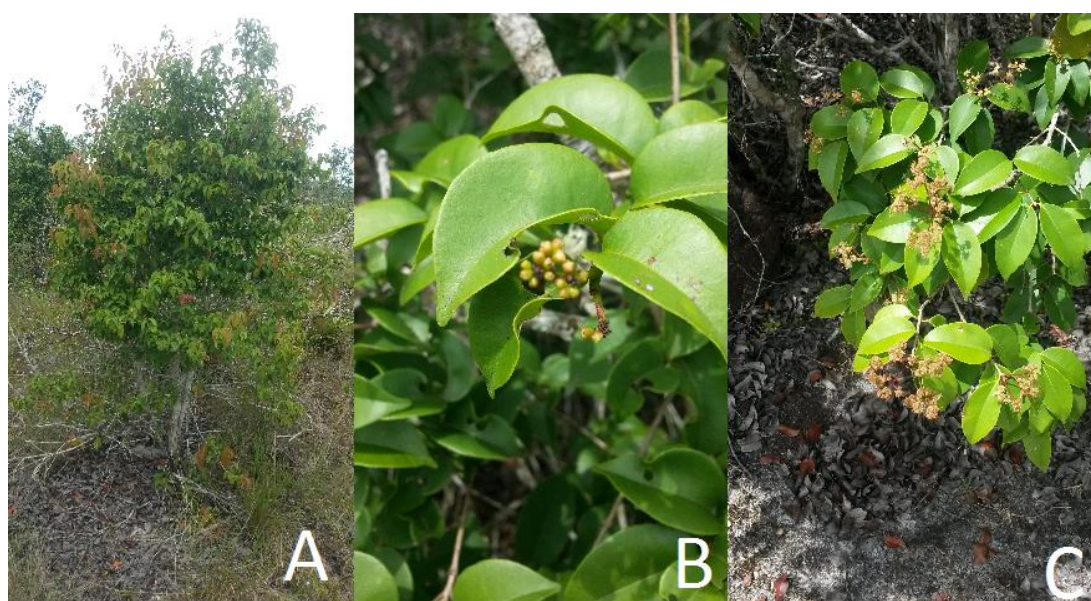


Figura 1. Planta de *Myrcia lundiana* (A), detalhes do fruto (B) e da inflorescência (C).

3.2. Diversidade química dos óleos essenciais de plantas aromáticas

Os óleos essenciais são produtos vegetais constituídos por uma mistura de substâncias químicas complexas, voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. A grande maioria é constituída de derivados de fenilpropanóides e/ou de terpenóides, sendo que esses últimos preponderam. Fisicamente, são líquidos voláteis de aparência oleosa à temperatura ambiente, geralmente com aroma agradável e intenso, podendo ser incolores ou ligeiramente amarelos (PIERRE, 2004). São também denominados de óleos etéreos por serem solúveis em solventes orgânicos apolares, como éter. Sua principal característica é a volatilidade, enquanto que os óleos fixos são misturas de substâncias lipídicas (SIMÕES e SPITZER, 2007). A partir da rota do ácido mevalônico os terpenos são biossintetizados, formados por unidades isoprênicas e classificados pelo número de unidades pentacarbonadas em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos e politerpenóides.

O mevalonato é formado da condensação de uma unidade de acetoacetil-CoA com uma molécula de acetil-CoA. Após a condensação aldólica, ocorre uma hidrólise originando a 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA que é reduzida a mevalonato numa reação irreversível. O mevalonato é então convertido em isopentenil-pirofosfato ou *isopreno* ativo, a unidade básica na formação dos terpenos e esteróides. A polimerização do mevalonato vai originar moléculas de cadeias carbonadas crescentes de cinco em cinco átomos de carbono. A molécula de isopentenil-pirofosfato e seu isômero dimetilalil-pirofosfato formam *trans*-geranil-pirofosfato, a partir do qual formam-se os demais terpenos (SANTOS, 2010). Novas ligações *cabeça cauda* entre *trans*-geranil-pirofosfato e isopentenil pirofosfato resultarão em sesqui (C15) e diterpenos (C20). Na figura 2 está representado o esquema da biossíntese dos mono e sesquiterpenos, a partir do mevalonato.

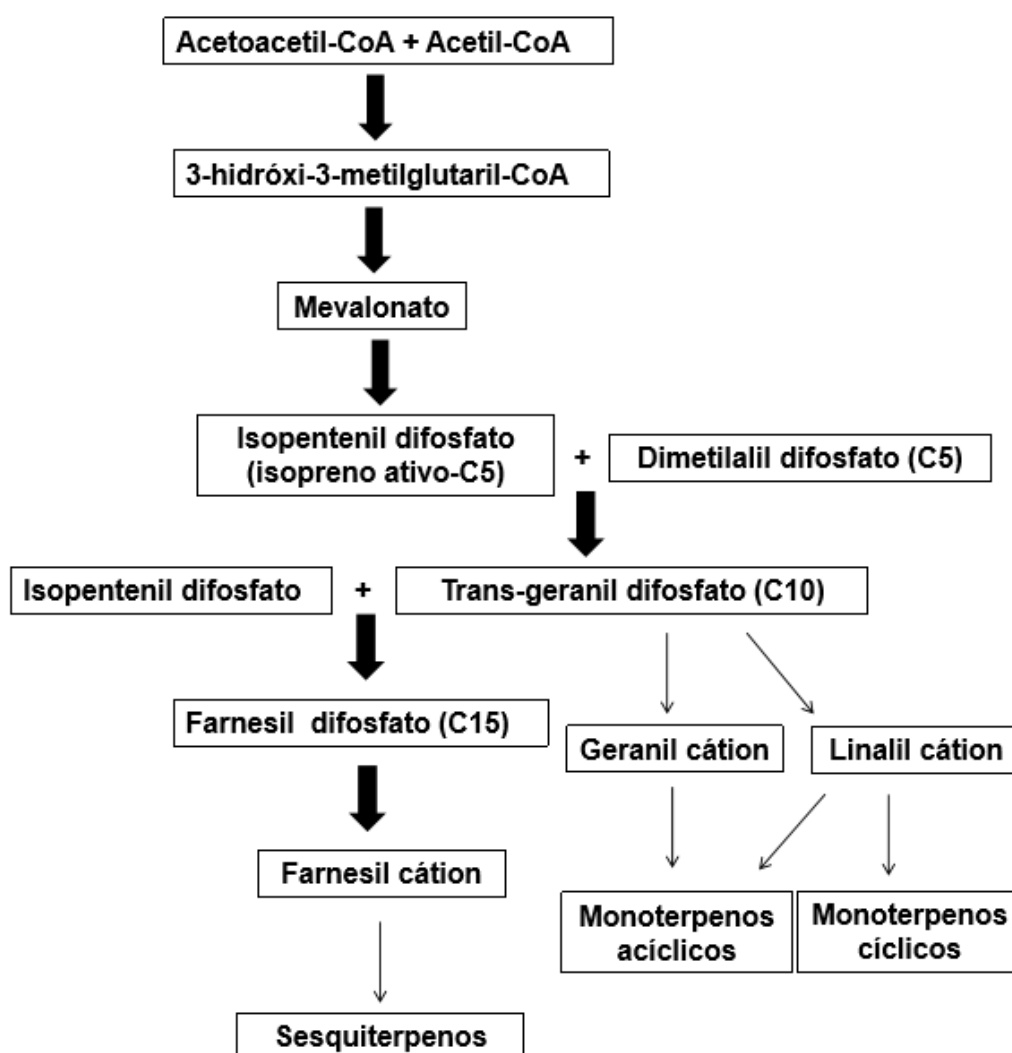


Figura 2. Esquema da biossíntese dos monoterpenos e sesquiterpenos.

Existe uma grande variabilidade de compostos encontrados no óleo essencial entre e dentro das espécies. Plantas de uma mesma espécie, idênticas fenotipicamente podem apresentar perfil químico distinto e são definidas como quimiotipos. Também, existem espécies distintas que podem apresentar um perfil químico semelhante em relação ao metabólito secundário de interesse (VIEIRA e COSTA, 2006). Vários fatores podem causar variações na composição de óleos essenciais, tais como, efeitos ambientais (umidade, temperatura, luminosidade), características genéticas, origem do material, práticas agrícolas, maturidade e tratamentos pós-colheita incluindo parâmetros de processamento tais como temperatura, tempo, pressão, e método de extração (VIEIRA e COSTA, 2006; GOBBO-NETO e LOPES, 2007; VERMA et al., 2010).

Atualmente, diversos estudos envolvendo a caracterização da diversidade química de plantas medicinais e aromáticas têm sido conduzidos. Estes estudos visam conhecer a variabilidade intrínseca ou a variabilidade entre o germoplasma de uma mesma espécie, baseada na presença ou concentração de substâncias específicas (VALLS, 2007). Os óleos essenciais são empregados para vários fins, como na indústria farmacêutica devido as suas propriedades assépticas, sedativas e analgésicas; na indústria de cosméticos como bases para sabonetes, cremes, perfumes e, na indústria de alimentos como incrementadores de aroma e sabor. Em função da crescente valorização desses metabólitos secundários, algumas pesquisas são direcionadas no sentido de maximizar a quantidade de óleo essencial produzido, por várias espécies de plantas, sem perder a sua qualidade, ou seja, mantendo a concentração ideal de seus constituintes químicos de interesse (GONÇALVES, 2000).

Alves et al. (2016) avaliando a diversidade química de *Myrcia lundiana*, observaram que a espécie possui ampla variedade de compostos nos óleos essenciais entre as plantas estudadas. Os óleos essenciais de *M. lundiana* abordados neste trabalho caracterizam-se por diferentes quimiotipos, os quais foram definidos através do (s) seu (s) componente (s) majoritários como: quimiotipo 1,8 cineol (planta MLU-005), quimiotipo isopulegol (planta MLU-019) e quimiotipo citral (planta MLU-022).

O isopulegol (Figura 2-A) é um monoterpene álcool de uso terapêutico (SILVA, 2007). É um intermediário muito importante na produção industrial do mentol, sendo amplamente utilizado na obtenção de produtos farmacêuticos, agrotóxicos, cosméticos, cremes dentais, e goma de mascar (LENARDÃO et al., 2007).

O 1,8-cineol (Figura 2-B) é um terpeno constituinte de diversos óleos essenciais de plantas utilizadas na medicina popular, como antiinflamatório, antitumoral, gastroprotetora, sendo ainda utilizado como bactericida e fungicida (ALITONOU et al., 2004; SILVA, 2007).

O citral (Figura 2-C) é uma mistura de dois monoterpene aldeídos acíclicos isoméricos: geranial (*trans*-citral, citral A) e neral (*cis*-citral, citral B). Possui aroma característico de limão, sendo amplamente empregado nas indústrias de perfumaria, alimentos e cosméticos, aromatização de sorvetes, bebidas, refrigerantes, confeitos, composição de perfumes, entre outros produtos (HEYDORN et al., 2003; BRITO et al., 2011).

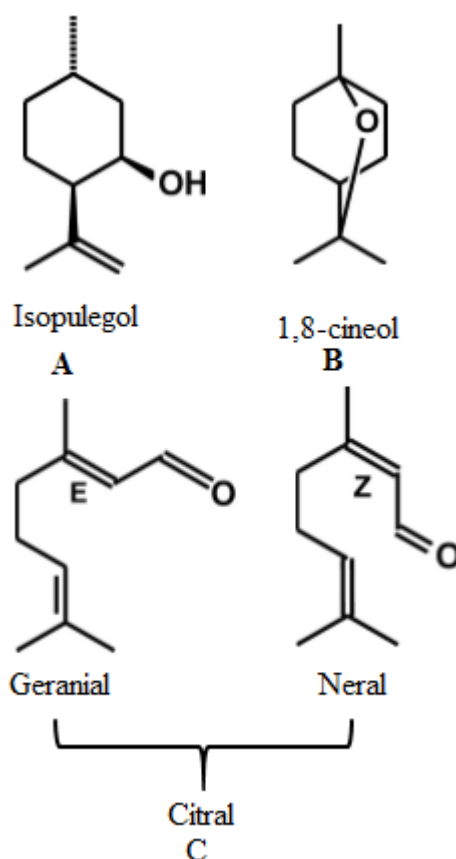


Figura 3. Estruturas químicas dos principais monoterpenos presentes nos quimiotipos de *Myrcia lundiana*: (A) isopulegol; (B): 1,8-cineol; (C): Citral.

3.3. Fungos fitopatogênicos

O crescimento populacional diminuiu as áreas apropriadas ao cultivo agrícola e aumentou a demanda por alimentos. As previsões de crescimento populacional revelam que no ano de 2050 a população mundial chegue aos nove bilhões de habitantes (CARRER et al., 2010). Assim, produzir alimento que supra as necessidades desse quantitativo é um desafio. Diante de todos os fatores que reduzem a produção de alimentos, as doenças fúngicas são de grande impacto na agricultura.

O controle alternativo de fungos fitopatogênicos tem sido discutido amplamente no contexto atual. Muitos produtos naturais, entre os quais os extratos e os óleos essenciais de plantas medicinais, condimentares e aromáticas, apresentam potencial para o manejo de doenças de plantas (SILVA et al., 2010). O desenvolvimento de novas alternativas seguras e biodegradáveis como os fungicidas naturais têm crescido devido à demanda de consumidores por produtos isentos de produtos químicos sintéticos. O estudo do potencial fungicida de óleos essenciais e seus compostos majoritários puros é

uma importante fonte de novos candidatos potenciais antifúngicos. Dentre as espécies de fungos fitopatogênicos de interesse na agricultura, destacam-se *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum musae*, *Fusarium solani* e *Fusarium pallidoroseum*.

Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griffon e Maubl. (syn. *Botryodiplodia theobromae* Pat.) é um fungo cosmopolita, polífago e oportunista, responsável por doenças importantes em várias culturas como mangueira (*Mangifera indica* L.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), dentre outras (FREIRE e CARDOSO, 2003). Atualmente verifica-se a crescente expansão das doenças causadas por *L. theobromae* em frutíferas tropicais, proporcionando inestimáveis perdas, tanto no sistema produtivo como em pós-colheita, representando uma ameaça à fruticultura no Nordeste (CARDOSO et al., 2002; FREIRE et al., 2011). Fungicidas sintéticos, incluindo difeconazol, clorotalonil, propiconazol, procloraz, tiabendazol e piramentanil são recomendados para tratar doenças nos frutos da manga e outras culturas de interesse econômico (SMILANICK et al., 2008; COMBRINCK et al., 2011). No entanto, o controle das doenças causadas por *L. theobromae* torna-se bastante difícil, face às características ecológicas intrínsecas do fungo e a grande variedade de hospedeiros.

A espécie *F. pallidoroseum* existe como saprofita, podendo atuar como patógeno causando deterioração de plantas, podridão de raízes, frutos pós-colheita ou deterioração de folhas em grandes variedades de plantas, podendo também fazer parte de um complexo de doenças, quando está presente juntamente com outros fungos e fitonematóides (DIAS e TERAQ, 2006). A infecção causada por esse fitopatógeno ocorre ainda no campo (pré-colheita) e a penetração do patógeno se dá na região do corte do pedúnculo. Mesmo após a transferência para câmaras frias, o patógeno continua a sua patogênese, podendo degradar totalmente o fruto ou causar lesões que afetam sua comercialização (TERAQ et al., 2009). Além disso, o controle da doença é difícil devido à grande agressividade do patógeno. Na região nordeste esse fungo atua mais agressivamente, pois devido aos programas de irrigação, os frutos são produzidos o ano todo. O clima quente e úmido nessa região favorece à sobrevivência e fortalecimento desse fungo. As doenças pós-colheita de melão podem ser controladas por fungicidas sintéticos, tais como o imazalil iprodiona e azoxistrobina (TERAQ et al., 2003; TERAQ et al., 2006; LOKESH et al., 2008).

O *F. solani* é cosmopolita, podendo ser encontrado em substratos diversos, sendo considerado patógeno de muitas espécies de plantas cultivadas (LESLIE e SUMMERELL, 2006). O *F. solani* tem vários registros de ocorrência em muitas culturas encontradas no Brasil, sendo conhecido por apresentar resistência sobre inúmeros fungicidas e, portanto, grandes quantidades de óleo essencial são requeridas em seus estudos (ARANGO et al., 2011). Métodos drásticos de controle, como a esterilização do solo, têm o uso limitado a pequenas áreas. Porém, em áreas extensivas, a melhor medida de controle ecologicamente sustentável é a rotação de culturas. No entanto, para fungos com habilidade de competição saprofítica, ou que formam estruturas de resistência (TOLÊDO SOUZA et al., 2009) esse método torna-se ineficaz. Sendo a prática da utilização de fungicidas alternativos com base em produtos naturais a forma mais eficiente para o controle de fungo fitopatogênico.

A podridão dos frutos causada por *C. musae* é a doença mais importante da banana, sendo presente em frutos verdes e maduros, tornando o produto pouco apresentável e inadequado à comercialização (CRUZ et al., 2013). Seu controle é realizado com o uso de tratamentos químicos e práticas culturais, para reduzir a quantidade de inóculo no campo. Devido a alta toxicidade dos fungicidas sintéticos no ambiente, a pesquisa sobre fungicidas alternativos torna-se prioridade mundialmente.

3.4. Diversidade genética de plantas aromáticas

Informações a respeito da diversidade são usadas para aumentar a eficiência dos trabalhos de melhoramento de espécies cultivadas (GELETA et al., 2005). Diversos métodos para estimar distância genética, como descritores fenotípicos e marcadores moleculares, têm sido sugeridos em estudos de diversidade das espécies de pimentas e pimentões, por exemplo (TOQUICA et al., 2003; SUDRÉ et al., 2005).

A manutenção da diversidade genética é importante para a sobrevivência das espécies, pois permite a elas responder às variações ambientais funcionando como um instrumento de adaptação que permite a sobrevivência por muito tempo (SHENGL et al., 2005). A redução desta variabilidade torna as populações mais vulneráveis à extinção, no caso de perturbação de *habitat*, podendo reduzir a habilidade de uma espécie em responder a estas transformações (PROVAN et al., 2008; SWARTS et al., 2009; MUÑOZ et al., 2010).

Para preservar a diversidade genética de uma espécie, é preciso conhecer a sua distribuição populacional, dentre outras características. Por isso, o conhecimento da estrutura genética de espécies é entendido como ponto de partida para a realização de programas de conservação (MAMURIS, et al., 2001).

Embora nem sempre populações com pequeno tamanho e distribuição geográfica restrita apresentem menor variabilidade. A manutenção de um nível constante de variabilidade genética é considerada importante para a preservação da espécie (Neel e Cummings, 2003) e para sua sobrevivência com longo prazo (TANSLEY e BROWN, 2000).

3.5. Marcadores moleculares

A identificação do DNA como sendo o material genético das células, possibilitou estudos mais aplicados ao seu funcionamento. Muitos resultados foram obtidos com a técnica de duplicação de DNA *in vitro*, em especial a técnica de PCR (Polimerase Chain Reaction), que permitiu a duplicação do DNA em uma reação em cadeia (RAMALHO, 2008). Esta técnica possibilitou o desenvolvimento e aplicação de marcadores moleculares, para estudos específicos de sequências desejadas, clonagem de genes, construção de árvores filogenéticas, genes condicionantes de características de interesse e mapeamento genômico (OLIVEIRA, 2010).

Marcadores moleculares de DNA têm sido utilizados para marcação de genes de resistência a doenças, insetos e pragas, avaliação e caracterização de germoplasma, melhoramento de genitores, introgressão gênica e seleção assistida por marcadores. Também são amplamente empregados no desenvolvimento de mapas genéticos, determinação de grupos heteróticos e associação com regiões genômicas que afetam heterose, reconstituição de pedigrees. Apresentam-se como ferramentas muito úteis em testes de pureza genética, seleção de resistência a patógenos exóticos ainda inexistentes em determinada região, associação com caracteres quantitativos, estudos de interação genótipo-ambiente, processos legais, entre outros (MILACH, 1998).

Os marcadores moleculares ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) apresentam um método baseado nos microssatélites, no entanto não necessitam do conhecimento prévio do genoma. São marcadores moleculares dominantes, ou seja, não diferenciam os indivíduos heterozigotos dos homozigotos, no entanto, tem a vantagem de analisar locos múltiplos em uma única reação. Estes primers podem estar ancorados na extremidade 5'

ou 3' por 1 ou 4 bases degeneradas, sendo baseados na amplificação da molécula de DNA pela técnica de PCR. Os alelos polimórficos ocorrem sempre que em um genoma ocorra deleção ou inserção em uma sequência, que modifica a distância entre as repetições. Também, ocorre devido a diferenças no comprimento do microssatélite, principalmente nos *primers* ancorados na posição 5' (GOULÃO e OLIVEIRA, 2001).

Apresentam um produto de amplificação de 200 a 2000 pares de bases e necessitam de temperaturas elevadas para anelamento (COSTA et al., 2010). Os marcadores moleculares ISSR são recomendados para análises de espécies relacionadas evolutivamente, obtendo-se resultados confiáveis, devido sua abundância e dispersão no genoma, sendo marcadores de alta reprodutibilidade, locos polimórficos em quantidades satisfatórias e por apresentarem rapidez em seus resultados com custos razoavelmente menores em comparação aos outros marcadores (RODRIGUES, 2010). Esses marcadores de DNA podem contribuir em programas de melhoramento vegetal para seleção de genótipos a serem utilizados futuramente como genitores de novas cultivares, pois apresentam-se entre os mais utilizados atualmente para várias espécies de plantas. Também são aplicados em estudos de diversidade genética, “fingerprinting” e seleção assistida (COSTA et al., 2010).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALITONOU, G.; AVLESSI, F.; WOTTO, V.D.; DANGOU, J.; SOHOUNHLOUÉ, D.C.K. Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. **Comptes Rendus Chimie**, Paris, v. 7, p. 1051-1055, sept. 2004.

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

ANDRADE, G.S.; GUIMARÃES, A.G.; SANTANA, M.T.; SIQUEIRA, R.S.; PASSOS, L.O.; MACHADO, S.M.F.; RIBEIRO, A.S.; SOBRAL, M.; ALMEIDA, J.R.G.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Phytochemical screening, antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Myrcia pubiflora* in mice. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 181-188, 2012.

ARANGO, W.M.; RUÍZ, J.M.A.; JARAMILLO, C.A.P. Fungicidal activity of Eucalyptus tereticornis essential oil on the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. **Revista Cubana de Farmacia**, v.45, p.264-274, 2011

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

BRITO, E.S.de; GARRUTI, D.S.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F. **Caracterização odorífera dos componentes de óleo essencial de campim-santo (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae) por cromatografia gasosa (CG) - olfatometria.** Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 15p.

CARDOSO, J.E.; VIDAL J.C.; SANTOS, A.A.; FREIRE, F.C.O.; VIANA, F.M.P. First report of black branch dieback of cashew caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v.86, p.558-558, 2002.

CARRER, H.; BARBOSA, A.L.; RAMIRO, D.A. **Biotecnologia na agricultura.** Estudos Avançados, v. 24, p. 149-164, 2010.

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

CHAO, S.C.; YOUNG, D.C. Screening for inhibitory activity of essential oils our selected bacteria, fungi and viruses. **Journal Essential Oil Research**, v.12, p. 630-649, 2000.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v.33, p.344-349, 2011.

COSTA, J.L.; OLIVEIRA, E.J.; JESUS, O.N.; OLIVEIRA, G.A.F.; NEVES, C.G. Marcadores moleculares como ferramenta para estruturação da diversidade genética em genótipos de maracujazeiro. **Jornada Científica** – Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2010.

CRUZ, M.E.S.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CLEMENTE, E.; ITAKO, A.T.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.J.S. Plant extracts for controlling the post-harvest anthracnose of banana fruit. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, supl. 1, 2013.

DIAS, R.C.S.; TERAPO, D. **Doenças das cucurbitáceas**. In: Oliveira, S.M.A. et al. (Eds.) Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 595-627, 2006.

DINIZ, S.P.S.S.; COELHO, J.S.; ROSA, G.S.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R.C.; OLIVEIRA, R.R. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 4, p. 9-11, 2008.

FONTES, J.E.N.; MATOS, I.L.; MACHADO, S.M.F.; RIBEIRO, A.S.; CAVALCANTI, S.C.H. Atividade larvicida do óleo essencial das folhas frescas de *Myrcia lundiana* e *Myrcia guianensis* (Myrtaceae) frente ao *Aedes aegypti*. In: 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Florianópolis. 2011.

FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E. Doenças do coqueiro. In: Freire, F.C.O, Cardoso, J.E. & Viana, F.M.P. (Ed.) **Doenças de fruteira tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2003. p. 191-226.

FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E.; VIANA, F.M.P.; MARTINS, M.V.V. Status of *Lasiodiplodia theobromae* as a plant pathogen in Brazil. **Essentia**, Sobral, v.12, n.2, p.53-71, 2011.

GELETA, L.F.; LABUSCHAGNE, M.T.; VILJOEN, C.D. Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. **Biodiversity and Conservation**, v.14, p. 2361-2375, 2005.

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

GONÇALVES, L.A. **Os tricomas glandulares de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) e o desenvolvimento da espécie em dois níveis de radiação solar.** 2000. 105f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

GOULÃO, L.; OLIVEIRA, C.M. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. **Euphytica**, v. 122, p. 81-89, 2001.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B.K.; LANDRUM, L.R.; MASTSUMOTO, K.; MAZINE, F.F.; NIC LUGHADHA, E.; PROENÇA, C.E.B.; SILVA, L.H.S.; WILSON, P.G.; LUCAS, E.J. World checklist of Myrtaceae. **Royal Botanic Gardens**, 2008, 455p.

HEYDORN, S.; JOHANSEN, J.D.; ANDERSEN, K.E.; BRUZE, M.; SVEDMAN, C.; WHITE, I.R. Fragrance allergy in patients with hand eczema a clinical study. **Contact Dermatitis**, v. 48, n. 6, p. 317-323, 2003.

LENARDÃO, E.J.; BOTTESELLE, G.V.; AZAMBUJA, F.; PERIN, G.; JACOB, R.G. Citronellal as key compound in organic synthesis. **Tetrahedron**, v. 63, p. 6671-6712, 2007.

LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The Fusarium laboratory manual**, Malden: Blackwell, 2006, 420 p.

LOKESH, S.; GOVINDAPPA, M.; RAGHAVENDRA, V.; SUDISHA. First report on the flower-rot of *Crossandra infundibuliformis*, a commercial flower crop in India. **Journal of General Plant Pathology**, v.74, p.338-340, 2008.

MAMURIS, Z.; SFOUGARIS, A.I.; STAMATIS, C. Genetic structure on Greek brown hare (*Lepus europaeus*) populations as revealed by mtDNA RFLP-PCR analysis: implications for conserving genetic diversity. **Biological Conservation**, v.101, p.187-196, 2001.

MARQUES, R.P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, v. 34, p. 1675-1680, 2004.

MARTINELLI, G.; MORAES, M.A. (Eds). 2013. **Livro Vermelho da Flora Brasileira**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobson Estúdio, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 1100p.

MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre. 1998. 141 p.

MUÑOZ, M.; WARNER, J.; ALBERTAZZI, F.J. Genetic diversity analysis of the endangered slipper orchid *Phragmipedium longifolium* in Costa Rica. **Plant Systematics and Evolution**, v.290, p.217-223, 2010.

NEEL, M.C.; CUMMINGS, M.P. Effectiveness of conservation targets in capturing genetic diversity. **Conservation Biology**, v.17, p.219-229, 2003.

OLIVEIRA, T.M.S. **PCR em tempo real: métodos e aplicações**. 2010. 111f. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade de Aveiro, 2010.

PIERRE, P.M.O. **Caracterização citogenética e molecular de três acessos de *Lippia alba* (Verbenaceae)**. 2004. 95p. Dissertação (Mestrado em genética), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

PROVAN, J.; WILSON, S.; PORTIG, A.A.; MAGGS, C.A. The importance of reproductive strategies in population genetic approaches to conservation: an example from the marine angiosperm genus *Zostera*. **Conservation Genetics**, v.9, p. 271-280, 2008.

TANSLEY, S.A.; BROWN, C.R. RAPD variation in the rare and endangered *Leucadendron elimense* (Proteaceae): implications for their conservation. **Biological and Conservation**, v.95, p. 39-48, 200.

TERAO, D.; VIANA, F.M.P.; ALVES, R.E.; ROSSETTI, A.G.; GONDIM, D.M.F. Efeito de metilciclopropeno (1-MCP) combinado à refrigeração no controle de podridão pós-colheita em frutos de melão. **Proceedings/Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v.47, p.53-57, 2003.

TERAO, D.; OLIVEIRA, S. M. A.; VIANA, F. M.; ROSSETTI, A. G.; SOUZA, C.C.M. Integração de fungicidas à refrigeração no controle de podridão pós-colheita em frutos de meloeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.89-93, 2006.

TERAO, D.; OLIVEIRA, S.M.A.; VIANA, F.M.P.; SÁ, C.R.L.; MOURA, R.D.; GONDIM, D.M.F. Manejo da podridão de melão pelo controle do amadurecimento através do 1-mcp, sob duas condições de armazenamento. **Summa Phytopathology**, v.26, n.2, p.110-115, 2009.

THORMAR, H. **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**, John Wiley & Sons Ltd, London, p. 338, 2012.

TOLÊDO-SOUZA, E.D.; LOBO-JÚNIOR, M.; SILVEIRA, P.M.; FILHO, A.C.C. Interações entre *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *Rhizoctonia solani* na severidade da podridão radicular do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.39, n. 1, p.13-17, 2009.

TOQUICA, S.P.; Rodríguez, F.; Martínez, E.; Duque, M.C.; TOHME, J. Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germplasm from the Amazon Department in Colombia. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.50, p.639-347, 2003.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.A.B.P. **Genética na Agropecuária**, 4. ed. Lavras: UFLA, 2008. 464 p.

RODRIGUES, J.F. **Delimitação de espécies e diversidade genética no complexo *Cattleya coccínea* Lindl. e *C. Mantiqueirae* (Flowie) Van der Berg (*Orchidaceae*)**

baseada em marcadores moleculares ISSR. 2010. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”. Piracicaba, 2010.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M.O; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 6 eds., Porto Alegre, URGs; Florianópolis, UFSC, p. 403-434, 2010.

SHENGL, Y.; ZHENG, W.; PEI, K.; KEPING, M.A. Genetic Variation Within and Among Populations of a Dominant Desert Tree *Haloxylon mmodendron* (Amaranthaceae) in China. **Annals of botany**, v. 96, p. 245-252, 2005.

SILVA, M.I.; AQUINO NETO, M.R.; TEIXEIRA NETO, P.F.; MOURA, B.A.; AMARAL, J.F.; SOUSA, D.P.; VASCONCELOS, S.M.; SOUSA, F.C. Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 88, p. 141–147, 2007.

SILVA, F.W.F. **Efeito do 1,8-cineol sobre os parâmetros eletrofisiológicos das células nervosas do gânglio cervical superior de ratos**. 2007. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde. Fortaleza, 2007.

SILVA, M.B.; MORANDI, M.A.B.; PAULA JÚNIOR, T.J.; VENZON, M.; FONSECA, M.C.M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, v. 31, p. 70-77, 2010.

SILVA, M. G. F. **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjericão (*Ocimum basilicum* L.)**. 2007. 80f. Graduação (Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMOES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.

Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, Florianópolis, 2007.

SIQUEIRA, M.F. **Análise florística e ordenação de espécies arbóreas da Mata Atlântica através de dados binários.** 1994. 143f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

SMILANICK, J.L., MANSOUR, M.F., GABLER, F.M., SORENSON, D. Control of postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and chemicals. **Postharvest Biology and Technology.** v.47, p.236-238, 2008.

SOUZA, M.C.; MORIM, M.P.; CONDE, M.M.S.; MENEZES, L.F.T. Subtribo *Myrciinae* O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. **Acta botânica Brasileira,** v. 21, p. 49-63, 2007.

SUDRÉ, C.P.; CRUZ, C.D.; RODRIGUES, R.; RIVA, E.M.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; SILVA, D.J.H.; PEREIRA, T.N.S. Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. **Horticultura Brasileira,** v.24, p.88-93, 2006.

SWARTS, N.D.; SINCLAIR, E.A.; KRAUSS, S.L.; DIXON, K.W. Genetic diversity in fragmented populations of the critically endangered spider orchid *Caladenia huegelii*: implications for conservation. **Conservation Genetics,** v. 10, p.199-208, 2009.

TANSLEY, S.A.; BROWN, C.R. RAPD variation in the rare and endangered *Leucadendron elimense* (Proteaceae): implications for their conservation. **Biological Conservation,** v. 95, p. 39-48, 2000.

TOQUICA, S.P.; FERNANDO RODRÍGUEZ, F.; MARTÍNEZ, E.; DUQUE, M.C.; TOHME, J. Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germplasm from the Amazon Department in Colombia. **Genetic Resources and Crop Evolution,** v. 50, p. 639-347, 2003.

VALLS, J.F.M. Caracterização de Recursos Genéticos Vegetais, in Recursos genéticos vegetais, L. L. NASS, Ed., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Brasil, 2007.

VERMA, R.S.; RAHMAN, L.; VERMA, R.K.; CHAUHAN, A.; YADAV, A.K.; SINGH, A. Essential Oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and peppermint (*Mentha piperita*) cultivars at different stages of plant growth from Kumaon region of western Himalaya. **Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 1, p. 13-18, 2010.

VIEIRA, R.F.; COSTA, T.S.A. Em Recursos Genéticos Vegetais; Nass, L., org.; Embrapa **Recursos Genéticos e Biotecnologia**: Brasília, 2006, cap. 10.

**CAPÍTULO I: POPULAÇÃO NATIVA DE *Myrcia lundiana* KIAERSK POSSUI
ÓLEO ESSENCIAL COM DIFERENTE COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA SOBRE *Lasiodiplodia theobromae***

Mércia Freitas Alves, Alberto Ferreira do Nascimento Junior, Daniela Aparecida de Castro Nizio, Taís Santos Sampaio, Fabiany de Andrade Brito, Juliana Oliveira de Melo, Maria de Fátima Arrigoni-Blank, Paulo Roberto Gagliardi, Samisia Maria Fernandes Machado, Arie Fitzgerald Blank*

Universidade Federal de Sergipe, Cidade Universitária Professor José Aloísio de Campos, Avenida Marechal Rondon s/n, Rosa Elze, São Cristóvão, Sergipe, CEP 49100-000, Brazil.

*Corresponding author

Telephone 55-79-31946981

Fax 55-79-31946474

E-mail address: arie.blank@gmail.com (A.F. Blank)

Artigo publicado no periódico *Industrial Crops and Products*, v.85, p. 266-273, 2016.

RESUMO

Myrcia lundiana Kiaersk (Myrtaceae) é um arbusto medicinal e aromático ou pequena árvore de até 6 m de altura, sem estudos de diversidade química e seu uso no controle de patógenos de plantas. Os objetivos deste estudo foram caracterizar a diversidade química do óleo essencial das folhas de plantas *M. lundiana* coletados no estado de Sergipe e avaliar o potencial antifúngico de uma planta representante de cada grupo químico contra *Lasiodiplodia theobromae*. Óleos essenciais de 23 plantas foram obtidos por hidrodestilação e analisados por GC/MS-FID. Vinte e quatro compostos foram identificados no óleo essencial de plantas *M. lundiana*. Observou diversidade química entre plantas, que foram distribuídos em grupos químicos. Três grupos foram formados pela análise de agrupamento. Grupo I, composto por 10 plantas, foi caracterizado por apresentar ácido nerólico (24,44-43,97%) e 1,8-cineol (10,53-33,75%) como os principais compostos. Grupo II, que consiste em 4 plantas, apresentou neral (9,74-24,25%) e geranial (13,71-32,64%) como os principais compostos; grupo III, composto por 9 plantas, apresentou isopulegol (24,23-41,06%) e iso-isopulegol (11,42-5,26%) como os principais compostos. Os óleos essenciais dos grupos I, II e III proporcionaram inibição do crescimento micelial de *L. theobromae* em todas as concentrações testadas, atingindo 100,0% de inibição do crescimento micelial na concentração de 0,5 mL/L (grupo II), após 96 h de incubação.

Palavras chave: *Myrcia lundiana*, óleo essencial, constituintes químicos, fitopágenos.

1. Introdução

Myrcia lundiana Kiaersk é uma espécie da família Myrtaceae, encontrada em áreas tropicais e subtropicais do hemisfério sul (Govaerts et al., 2008). Extratos aquosos obtidos a partir de folhas de espécies do gênero *Myrcia* têm sido usados na medicina popular como adstringentes e diuréticos, no tratamento de diabetes mellitus, para parar o sangramento e para tratar a hipertensão e úlceras (Russo et al., 1990).

Embora haja pouca informação sobre as espécies *M. lundiana*, grande potencial foi encontrado para o uso de seu óleo essencial para controlar patógenos de plantas na agricultura, tornando-a economicamente importante. Em 2013, um produto fungicida obtido a partir de óleo essencial *M. lundiana* para eliminar o fungo *Lasiodiplodia theobromae* foi depositado como patente (Blank et al., 2013). O fungo *L. theobromae* se destaca na agricultura devido a perdas em espécies de frutas tropicais, tanto no sistema de cultivo e pós-colheita (Freire et al., 2011). A importância da alimentação dentro de uma realidade sócio-ambiental, em conjunto com o interesse dos consumidores por produtos de boa qualidade têm levado à busca de alternativas para controlar estes patógenos.

Os óleos essenciais consistem de uma mistura de um número variável de substâncias orgânicas, que podem chegar a centenas de substâncias, em várias concentrações, variando desde quantidades muito pequenas a grandes compostos (Lavabre, 2001). Vários fatores podem causar variações na composição de óleos essenciais, tais como, características genéticas ambientais, fonte de materiais, práticas agrícolas, maturidade, tratamento e extração métodos pós-colheita (Verma et al., 2010).

Estudos têm demonstrado a presença de diversidade química no óleo essencial de espécies aromáticas, tais como *Ocimum basilicum* (Costa et al., 2015), *Lippia alba* (Blank et al., 2015), *Varronia curassavica* (Nizio et al., 2015), *Lippia sidoides* (Santos et al., 2015), *Chrysopogon zizanioides* (Celestino et al., 2015), *Pogostemon sp* (Patchouli) (Blank et al., 2011), *Myrciaria cauliflora* (Duarte et al., 2012), *Eugenia dysenterica* (Duarte et al., 2010). Embora haja ocorrência de *M. lundiana* no Estado de Sergipe, não há informações sobre a diversidade química do óleo essencial desta espécie. Devido ao potencial de *M. lundiana* como matéria-prima para a obtenção e comercialização de bioprodutos para agricultura, é importante conhecer a diversidade química de seu óleo essencial. As informações obtidas neste estudo poderão ser úteis

para estabelecer estratégias de conservação e de reprodução de *M. lundiana*, e para permitir a descoberta de outros compostos bioativos potencialmente úteis para os seres humanos. Os objetivos deste estudo foram avaliar a essencial diversidade química do óleo essencial de plantas *M. lundiana* no município de Areia Branca/SE, Nordeste do Brasil, e avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial sobre o fungo *L. theobromae*.

2. Materiais e Métodos

2.1 Material vegetal

Vinte e três plantas de *M. lundiana* foram coletados no Parque Nacional de Itabaiana (Tabela 1). O Parque está localizado nos municípios de Areia Branca, Itabaiana, Laranjeiras, Itaporanga d'Ajuda e Campo do Brito, no estado de Sergipe, nordeste do Brasil: 10°41'06"S, 37°25'31"W, estando a uma altitude de 659 metros. Sua área abrange 7.966 hectares e 87,25 km de perímetro, compreendendo as áreas de Serras Cajueiro, Comprida e Itabaiana. Está localizado em uma zona de transição entre a caatinga e a mata atlântica, em que o quadro climático predominante na bacia onde está inserida é de semiárido, com precipitação anual variando entre 1100 e 1300 mm em estações bem definidas, e umidade relativa média mensal de 84,6%. O clima é composto de um período de quatro a cinco meses de seca, sendo um clima semiárido, com temperaturas entre 34,5 °C e 35 °C, mais quente que a capital Aracaju (IBAMA, 2006).

2.2 Extração e análise da composição química dos óleos essenciais

As folhas recém-coletadas de todas as plantas foram secas em estufa com circulação forçada de ar, a 40° C por cinco dias. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado. Amostras de 50g de folhas secas, em triplicata, foram destiladas por 140 minutos (Ehlert et al., 2006). Os óleos essenciais foram coletados e estocados em frascos âmbar, à -20°C até análise da composição química.

A análise da composição química dos óleos essenciais foi realizada 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 $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. A temperatura de injeção foi de $280 \text{ }^\circ\text{C}$, $1,0 \text{ } \mu\text{L}$ (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 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de $4 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, até $200 \text{ }^\circ\text{C}$, em seguida, a $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $300 \text{ }^\circ\text{C}$, permanecendo por 5 min. Para o CG/EM as moléculas foram ionizadas 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 500Da 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, 2007). Para o índice de retenção foi utilizado a equação de Van den Dool e Kratz (1963) em relação a uma série homóloga de n-alcanos ($n\text{C}9\text{-}n\text{C}31$). 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%.

2.3 Atividade antifúngica

Cultura pura do fungo *Lasiodiplodia theobroame* foi obtida da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Sergipe. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três repetições. Os óleos essenciais utilizados no ensaio de atividade antifúngica foram obtidos a partir de plantas representativas de cada grupo químico formado pela análise de agrupamentos. A planta MLU-005 representou o grupo I; MLU-019 representou o grupo II e a MLU-022 representou o grupo III. Para cada amostra foram testadas as concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 ($\mu\text{L.ml}^{-1}$) de óleo essencial. Os óleos essenciais foram solubilizados em 1% de DMSO (Dimetilsulfóxido) e homogeneizados em meio de

cultura ADB esterilizado (Batata Ágar Dextrose, HIMEDIA). Em seguida, as soluções foram vertidas em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro e cada placa foi inoculada, no centro, com um disco de 7 mm de diâmetro, contendo micélios da cultura do fungo.

As placas foram vedadas, identificadas e incubadas em câmara B.O.D (Demanda Bioquímica de Oxigênio) à temperatura de 22 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas diametralmente opostas), utilizando-se um paquímetro, 96 horas após a incubação. Foram usadas como controles, placas de Petri sem óleo essencial contendo meio ADB acrescido do solvente DMSO e placas de Petri contendo apenas o meio de cultura ADB. Como controle positivo foi utilizado o Viper 700 (0,07% p/v), um fungicida de largo espectro. Ao final das avaliações, calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento do fungo (PIC) dos tratamentos em relação à testemunha, utilizando-se a fórmula:

$$\text{PIC} = (\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}) / \text{diâmetro da testemunha} \times 100.$$

2.4 Análises estatísticas

A partir dos dados das análises dos constituintes químicos dos óleos essenciais, duas análises multivariadas foram realizadas, análise de agrupamento e análise de componentes principais (ACP) usando o software Statistica. Posteriormente, uma matriz de dissimilaridade foi construída com base na constituição química dos óleos essenciais de cada planta com base em suas distâncias euclidianas. A matriz de dissimilaridade foi simplificada com dendrogramas usando o método de agrupamento de Ward. Foi realizada análise de correlação entre todos os constituintes químicos do óleo essencial das plantas amostradas.

As médias dos teores dos constituintes químicos e as médias da porcentagem de inibição do crescimento micelial com os respectivos erros padrão das médias foram obtidos com o software Graph Pad Prism®.

3. Resultados

De acordo com as análises químicas, vinte e quatro compostos foram identificados no óleo essencial das plantas de *M. lundiana* amostradas (Tabela 2). Os compostos encontrados em maiores quantidades entre as plantas foram α -pineno, β -

pineno, 1,8-cineol, linalol, isopulegol, iso-isopulegol, neral, geranial e ácido nerólico, os quais definiram a formação de três grupos de acordo com a análise de agrupamento (Figura 1).

Considerando as similaridades dos constituintes químicos dos óleos essenciais das 23 plantas de *M. lundiana*, os grupos foram caracterizados como: Grupo I: MLU-001, MLU-002, MLU-005, MLU-007, MLU-010, MLU-012, MLU-013, MLU-014, MLU-018 e MLU-021, com ácido nerólico (21,97-43,97%) e 1,8-cineol (10,53-33,75%), como compostos majoritários; Grupo II: MLU-008, MLU-015, MLU-022 e MLU-023, com 1,8 cineol (11,50-16,43%), neral (22,45-24,25 e geranial (13,71-32,64), como compostos majoritários; Grupo III: MLU-003, MLU-004, MLU-006, MLU-009, MLU-011, MLU-016, MLU-017, MLU-019 e MLU-020, com 1,8-cineol (12,27-21,53%), isopulegol (24,23-41,06%) e/ou iso-isopulegol (0,00-18,27%), como compostos majoritários (Figuras 1 e 2).

Os compostos 1,8-cineol e óxido cariofileno foram identificados em 100 e 95% das plantas amostradas, respectivamente, com níveis variando de 11,50% (MLU-008) a 33,75% (MLU-018) e 0,36% (MLU-022) a 7,77% (MLU-014) (Tabela 2).

De acordo com a análise de componente principal (Figura 3), o componente principal primário representou 29,68% da variância total e foi relacionado positivamente com os compostos α -pineno ($r= 0,19$), β -pineno ($r= -0,66$), p -cimeno ($r= 0,67$), 1,8-cineol ($r= 0,22$), linalol ($r= 0,23$), terpinen-4-ol ($r= -0,30$), α -terpineol ($r= -0,44$), neral ($r= 0,09$), metil nerolato ($r=0,14$), E -cariofileno ($r= 0,18$), α -trans-bergamotreno ($r= 0,09$), β - salineno ($r= 0,43$), α -salineno ($r= 0,47$), óxido de cariofileno ($r= 0,07$), Z - α -Trans-bergamotol ($r= 0,22$) e negativamente para neo isopulegol ($r= -0,93$), isopulegol ($r= -0,90$), neo iso isopulegol ($r= -0,94$), iso isopulegol ($r= -0,05$), citronelol ($r= -0,89$), geranial ($r= -0,75$), metil<8-hidroxi-neo> ($r= -0,73$) e ácido nerólico ($r= -0,81$).

O componente principal secundário representou 16,52% da variância total e foi relacionado positivamente com os compostos, β -pineno ($r= 0,42$), p -cimeno ($r= 0,12$), 1,8-cineol ($r= 0,46$), linalol ($r= 0,29$), neo isopulegol ($r= 0,25$), isopulegol ($r= 0,16$), iso isopulegol ($r= 0,12$), neo iso isopulegol ($r= 0,25$), citronelol ($r= 0,19$), terpinen-4-ol ($r= 0,64$), α -terpineol ($r= 0,69$), geranial ($r= 0,27$), metil<8-hidroxi-neo> ($r= 0,02$), ácido nerólico ($r= 0,30$), E -cariofileno ($r= 0,10$), β - salineno ($r= 0,21$), α -salineno ($r= 0,05$), óxido de cariofileno ($r= 0,28$) e negativamente para α -pineno ($r= -0,62$), neral ($r= -$

0,85), methyl nerolato ($r = -0,93$), α -trans-bergamotreno ($r = -0,37$) e Z - α -Trans-bergamotol ($r = -0,04$).

Observou-se correlação positiva entre alguns compostos do óleo essencial das plantas estudadas (Tabela 3). O composto α -pineno apresentou correlação positiva com neral ($r = 0,62$) e methyl nerolato ($r = 0,54$), o composto β -pineno apresentou correlação positiva com p -cimeno ($r = 0,85$), α -terpineol ($r = 0,51$), geranial ($r = 0,69$) e methyl<8-hidroxi-neo> ($r = 0,62$). Para o composto p -cimeno houve correlação positiva com geranial ($r = 0,59$), o composto 1,8-cineol apresentou correlação positiva com terpinen-4-ol ($r = 0,56$) e α -terpineol ($r = 0,66$). Forte correlação do neo isopulegol com isopulegol ($r = 0,90$), neo iso-isopulegol ($r = 0,99$) e citronellol ($r = 0,89$). O composto isopulegol apresentou correlação positiva com neo iso isopulegol ($r = 0,91$) e citronellol ($r = 0,88$). O composto neo iso isopulegol apresentou correlação positiva com citronellol ($r = 0,87$), citronelol apresentou correlação positiva com methyl nerolato ($r = 0,81$), para o neral a correlação positiva ocorreu com methyl<8-hidroxi-neo> ($r = 0,73$) e ácido nerólico ($r = 0,68$). O composto methyl nerolato apresentou correlação positiva com ácido nerólico ($r = 0,51$), α -trans-bergamoteno ($r = 0,57$), methyl<8-hidroxi-neo> apresentou correlação positiva com α -salineno ($r = 0,50$), o ácido nerólico apresentou correlação positiva com α -trans-bergamoteno ($r = 0,50$) e o β -salineno apresentou forte correlação positiva com α -salineno ($r = 0,93$).

Os óleos essenciais dos grupos I, II, e III proporcionaram o máximo de inibição do crescimento micelial de *L. theobromae* em todas as concentrações testadas, alcançando o PIC de 100,0%, após 96 horas de incubação. O óleo essencial do grupo II exibiu CFM na concentração 0,05% $\mu\text{L}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Tabela 4). O fungicida de amplo espectro utilizado como controle positivo, Viper 700 (0,07% p/v), causou 100% de inibição do crescimento micelial.

4. Discussão

As plantas de *M. lundiana* coletadas apresentarem um perfil diferente quanto aos constituintes do óleo essencial. O ambiente onde as plantas foram encontradas são os mesmos para todas as 23 plantas amostradas, por isso, nessa população *M. lundiana*, podemos inferir que os fatores genéticos foram responsáveis pela diversidade química, uma vez que fatores ambientais foram os mesmos para todas as plantas. Os fatores ambientais podem afetar a disponibilidade de nutrientes para as plantas em diferentes

locais dentro da mesma população e, conseqüentemente, influenciar o conteúdo e a qualidade de metabólitos secundários dentro de uma comunidade ou população (Broz et al., 2010; Duarte et al., 2012). É comum observar-se uma grande diversidade na composição química dos óleos essenciais de uma única espécie. Esta variação pode ser causada por fatores genética e / ou ambientais (Duarte et al., 2010; Blank et al., 2011; Hosni et al., 2011; Branco, et al., 2015; Celestino et al., 2015; Costa, et al., 2015; Santos et al., 2015).

As informações referentes às correlações entre os compostos químicos podem ser úteis na conservação de recursos genéticos e em programas de melhoramento. Devido à alta correlação observada entre os compostos, ao selecionar uma planta com alto teor do primeiro composto, há grande possibilidade de que aquele apresente alto teor do segundo (Nizio et al., 2015).

O acesso MLU-022 tem potencial para conservação e melhoramento, uma vez que apresentaram níveis elevados de α -pineno, β -pineno, 1,8-cineol, neral, ácido geranial e nerolic, que são compostos importantes com vários tipos de atividades biológicas.

A inibição do crescimento micelial proporcionada pelos óleos essenciais representantes dos três grupos, pode ser devido à presença dos compostos majoritários 1,8-cineol, ácido nerólico, neral, geranial, isopulegol e iso isopulegol. No entanto, a presença de outros compostos, em concentrações mais baixas podem aumentar o efeito antifúngico do óleo essencial, bem como reduzir a sua toxicidade, o que favorece a sobrevivência dos fungos (Nizio et al., 2015). Os óleos essenciais dos grupos I, II, e III atuaram da mesma forma que o fungicida comercial, Viper 700 (0,07% p/v), podendo ser úteis no controle e/ou eliminação do *L. theobromae*, como comprovado através da patente depositada a partir do óleo essencial de *Myrcia lundiana* para eliminar o fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Blank et al., 2013). Atualmente, a aplicação de produtos naturais está ganhando força no controle de doenças de plantas (Akila et al. 2011), principalmente porque as preparações são biodegradáveis e menos prejudicial para os seres humanos e animais (Jayaraj et al., 2008; Devaiah et al., 2009).

Para confirmar se o potencial antifúngico dos óleos essenciais dos grupos químicos estudados é devido à presença dos compostos majoritários, estudos adicionais deverão ser feitos para isolar ácido nerólico e testar a sua atividade antifúngica.

Os resultados da caracterização da diversidade química dos acessos revelaram uma ampla variedade de compostos nos óleos essenciais, provavelmente devido às diferenças genéticas entre as plantas estudadas.

Os compostos encontrados em maiores quantidades foram 1,8-cineol, ácido nerólico, neral, geranial, isopulegol e iso isopulegol, os quais definiram a formação dos três grupos de acordo com a composição química e análise de agrupamento. Constatou-se a importância da variabilidade química apresentada pelas plantas de *M. lundiana*, pois poderá abrir caminhos para a prospecção e estudo de compostos com outras potencialidades medicinais, farmacológicas e fitopatológicas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, FAPITEC/SE, CAPES, FINEP e RENORBIO pelo suporte financeiro dado para realização deste trabalho.

5. Referências

- Adams, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, 4th ed., Allured: Carol Stream.
- Akila, R., Rajendran, L., Harish, S., Saveetha, K., Raguchander, T., Samiyappan, R. 2011. Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for the management of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense (Foc) causing Fusarium wilt in banana. *Biol. Control* 57, 175–183.
- Blank, A.F., Sant'ana, T.C.P., Santos, P.S., Arrigoni-Blank, M.F., Prata, A.P.N., Jesus, H.C.R., Alves, P.B., 2011. Chemical characterization of the essential oil from patchouli accessions harvested over four seasons. *Ind. Crops Prod.* 34, 831-837.
- Blank, A.F., Alves, M.F., Melo, J.O., Peixoto, M.G., Lima, A.D., Arrigoni-Blank, M.F., Machado, S.F., Nunes, R.S., Gagliardi, P.R., Matos, I.L., Nascimento Júnior, A.F., Santos, M.S., Silva, F.L.S., 2013. Produto fungicida, método para eliminar o fitopatógeno *Lasioidiplodia theobromae* com uso de óleo essencial de *Myrcia lundiana*. BR-10-2013-020960-0. *Revista da Propriedade Intelectual*.
- Blank, A.F., Camêlo, L.C.A., Arrigoni-Blank, M.F., Pinheiro, J.B., Andrade, T.M., Niculau, E.S., Alves, P.B., 2015. Chemical Diversity in *Lippia alba* (Mill.) N. E. brown germplasm. *Sci. World J.* 1-11.
- Broz, A.K., Broeckling, C.D., De La Peña, C., Lewis, M.R., Greene, E., Callaway, R.M., Sumner, L.W., Vivanco, J.M., 2010. Plant neighbor identity influences

- plant biochemistry and physiology related to defense. *BMC Plant Biol.* 10, 115-128.
- Celestino, R.S., Zucchi, M.I., Pinheiro, J.B., Campos, J.B., Pereira, A.A., Bianchini, F.G.; Lima, R.N., Arrigoni-Blank, M.F., Alves, P.B., Blank, A.F., 2015. Molecular and chemical characterization of vetiver, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty, germplasm. *Genet. Mol. Res.* 14, 9452-9468.
- Costa, A.S., Arrigoni-Blank, M.F., Carvalho Filho, J.L.S., Santana, A.D.D., Santos, D.A., Alves, P.B., Blank, A.F., 2015. Chemical Diversity in Basil (*Ocimum* sp.) Germplasm. *Sci World J.* 1-9.
- Devaiah, S. P., Mahadevappa, G. H., Shetty, H. S. 2009. Induction of systemic resistance in pearl millet (*Pennisetum glaucum*) against downy mildew (*Sclerospora graminicola*) by *Datura metel* extract. *Crop Prot.* 28, 783–791.
- Duarte, A.R., Naves, R.R., Santos, S.C., Seraphin, J.C., Ferri, P.H., 2010. Genetic and environmental influence on essential oil composition of *Eugenia dysenterica*. *J. Braz. Chem. Soc.* 21, 1459.
- Duarte, A. R.; Santos, S. C.; Seraphin, J. C.; Ferri, P. H. 2012. Influence of Spatial, Edaphic and Genetic Factors on Phenols and Essential Oils of *Myrciaria cauliflora* Fruits. *J. Braz. Chem. Soc.* 23, 737-746.
- Ehlert, P.A.D., Blank, A.F., Arrigoni-Blank, M.F., Paula, J.W.A., Campos, D.A., Alviano, C.S., 2006. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. *Rev. Bras. Plantas Med.* 8, 79-80.
- Freire, F.C.O., Cardoso, J.E., Viana, F.M.P., Martins, M.V.V., 2011. Status of *Lasiodiplodia theobromae* as a plant pathogen in Brazil. *Essentia* 12, 53-71.
- Govaerts, R., Sobral, M., Ashton, P., Barrie, F., Holst, B.K., Landrum, L.R., Mastsumoto, K., Mazine, F.F., Niclughadha, E., Proença, C.E.B., Silva, L.H.S., Wilson, P.G. & Lucas, E.J. 2008. Word checklist of Myrtaceae. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Hosni, K., Msaada, K., Taarit, M.B., Marzouk, B., 2011. Phenological variations of secondary metabolites from *Hypericum triquetrifolium* Turra. *Biochem. Syst. Ecol.* 39, 43-50.
- IBAMA. 2006. Plano operativo de prevenção e combate aos incêndios florestais no Parque Nacional Serra de Itabaiana. Disponível em: www.ibama.gov.br. Acessado em 14 de outubro de 2015.

- Jayaraj, J., Wan, A., Rahman, M., Punja, Z. K. 2008. Seaweed extract reduces foliar diseases on carrot. *Crop Prot.* 27, 1360–1366.
- Lavabre M. 2001. *Aromaterapia: A cura pelos óleos essenciais*. 5th ed. Rio de Janeiro: Record.
- Morais, L.A.S., 2009. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Hortic. Bras.* 27, 4050-4063.
- Nizio, D.A.C., Brito, F.A., Sampaio, T.S., Melo, J.O., Silva, F.L.S., Gagliardi, P.R., Arrigoni-Blank, M.F., Anjos, C.S., Alves, P.B., Wisniewski-Junior, A., Blank, A.F., 2015. Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. *Ind. Crops Prod.* 76, 437-448.
- Russo, E.M.K, Reichelt, A.A.J., Desa, J.R., Furlanetto, R.P., Moises, R.C.S., Kasamatsu, T. S., 9 Chacra, A.R., 1990. Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in 10 normal and diabetic patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 23, 11-20.
- Santos, C.P., Oliveira, T.C., Pinto, J.A.O., Fontes, S.S., Cruz, E.M.O., Arrigoni-Blank, M.F., Andrade, T.M., Matos, I.L., Alves, P.B., Innecco, R., Blank, A.F., 2015. Chemical diversity and influence of plant age on the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. germplasm. *Ind. Crops Prod.* 76, 416-421.
- Van Den Dool, H., Kratz, P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A* 11, 463-471.
- Verma, R.S., Rahman, L., Verma, R.K., Chauhan, A.; Yadav, A.K., Singh, A., 2010. Essential Oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and pepper mint (*Mentha piperita*) cultivars at different stages of plant growth from Kumaon region of western Himalaya. *J. M. A. P.* 1, 21 13-18.
- Watanabe, Y., Mihara, R., Mitsunaga, T., Yoshimura, T., 2005. Termite repellent sesquiterpenoids 23 from *Callitris glaucophylla* heartwood. *J. Wood Sci.* 51, 514-519.

Tabela 1. Identificação de plantas *M. lundiana* coletadas em Areia Branca, Sergipe, Brazil.

Planta	Informação georreferenciada
MLUN001	11°44'17,9"S; 37°52'0,80"W
MLUN002	10°44'57,0"S; 37°20'24,6"W
MLUN003	10°44'58,0"S; 37°20'26,2"W
MLUN004	10°44'58,0"S; 37°20'25,0"W
MLUN005	10°44'57,7"S; 37°20'24,6"W
MLUN006	10°44'57,5"S; 37°20'26,0"W
MLUN007	10°44'57,5"S; 37°20'26,1"W
MLUN008	10°44'56,2"S; 37°20'26,3"W
MLUN009	10°44'58,1"S; 37°20'26,1"W
MLUN010	10°45'00,0"S; 37°20'26,0"W
MLUN011	10°44'57,7"S; 37°20'24,3"W
MLUN012	10°44'56,2"S; 37°20'26,5"W
MLUN013	10°45'8,30"S; 37°20'27,5"W
MLUN014	10°44'57,5"S; 37°20'26,5"W
MLUN015	10°44'54,5"S; 37°20'27,9"W
MLUN016	10°44'56,5"S; 37°20'24,0"W
MLUN017	10°44'16,6"S; 37°52'00,5"W
MLUN018	10°44'58,2"S; 37°20'26,1"W
MLUN019	10°44'56,8"S; 37°20'24,0"W
MLUN020	10°44'57,5"S; 37°20'26,0"W
MLUN021	10°44'57,6"S; 37°20'26,1"W
MLUN022	10°45'8,10"S; 37°20'17,5"W
MLUN023	10°45'8,10"S; 37°20'18,5"W

Tabela 2. Compostos químicos dos óleos essenciais de plantas *M. lundiana* em Sergipe, Brasil.

Compostos	IRRo IRRl		Plantas (MLU)																						
	001	002	003	004	005	006	007	008	009	010	011	012	013	014	015	016	017	018	019	020	021	022	023		
α -pineno	933	932	3,18	2,26	3,51	1,33	5,64	3,15	3,34	1,57	2,74	5,22	3,14	4,15	3,97	3,20	4,31	2,51	2,75	2,61	0,92	0,65	5,15	5,00	5,24
β -pineno	974	974	4,80	5,51	6,51	2,50	11,39	7,28	7,05	3,12	4,83	8,28	6,11	6,91	7,67	8,23	7,44	5,88	6,04	3,44	0,67	0,58	9,25	9,93	9,62
<i>p</i> -cymeno	1020	1020	1,40	0,47	1,38	0,33	1,54	0,94	1,15	1,26	1,16	1,95	1,26	1,07	1,08	0,65	1,04	0,55	0,76	1,34	0,94	0,66	1,15	1,86	-
1,8-cineol	1026	1026	22,17	14,81	14,32	13,82	25,93	15,32	12,36	11,50	16,36	17,39	13,45	11,73	11,77	10,53	11,76	21,53	13,65	33,75	14,46	12,27	21,04	11,89	16,43
linalol	1095	1095	9,57	7,63	1,88	3,94	1,46	1,91	0,81	1,41	1,83	1,96	1,46	1,12	1,13	3,12	1,11	3,21	0,72	2,25	2,54	2,36	7,93	1,33	1,45
neo isopulegol	1142	1143	0,17	0,26	13,47	-	0,26	-	0,16	-	-	0,14	-	0,42	0,29	-	-	-	-	-	-	-	0,15	-	0,26
isopulegol	1145	1145	-	-	31,82	33,90	-	31,55	-	-	32,65	-	27,15	-	-	-	2,36	24,23	38,83	-	41,06	40,55	-	-	-
citronelal	1148	1148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,65	-	-	-	-	4,04	-	-	-	-	-	-	-	-
iso-isopulegol	1156	1155	-	-	-	11,87	-	13,32	-	-	13,51	-	-	-	-	5,32	11,42	-	-	15,26	-	-	-	-	-
neo iso-isopulegol	1174	1174	-	-	1,19	1,24	-	1,30	-	-	1,47	-	1,20	-	-	-	1,16	1,53	-	2,11	1,79	-	-	-	-
terpinen-4-ol	1174	1174	4,31	2,27	2,82	2,23	4,42	2,74	3,22	1,65	3,90	4,13	3,62	2,53	2,56	1,63	1,92	1,63	2,03	3,61	2,07	2,48	3,14	1,66	2,44
α -terpineol	1186	1186	6,27	4,40	7,49	4,83	7,13	4,65	5,45	3,22	5,86	6,37	5,15	5,65	4,68	3,29	0,82	4,21	3,65	7,12	3,15	2,57	8,25	3,16	4,96
citronelol	1222	1223	-	-	1,41	5,15	-	2,28	-	-	2,31	-	3,40	-	-	-	1,21	2,41	2,36	-	3,17	3,15	-	-	-
neral	1235	1235	0,31	0,48	-	-	0,23	-	0,65	21,70	-	0,23	-	1,72	1,83	0,94	2,45	-	-	0,20	-	-	0,14	24,25	9,74
geranial	1249	1249	0,37	0,73	-	-	0,34	-	1,17	26,49	-	0,23	-	2,45	2,66	1,37	32,64	-	-	0,25	-	-	0,22	31,34	13,71
methyl nerolato	1280	1280	1,27	2,52	0,13	0,24	2,61	0,10	1,51	-	0,16	2,27	0,31	1,29	1,27	0,70	1,66	0,16	0,36	-	0,20	0,21	3,33	-	1,12
methyl<8-hydroxy-neo>	1339	1339	-	-	0,93	2,10	-	1,00	-	-	0,34	-	1,13	-	-	-	0,71	1,19	-	1,24	2,04	-	-	-	-
ácido nerólico	1346	1347*	33,66	42,59	-	-	24,44	0,31	43,97	22,45	-	35,63	22,99	31,35	32,39	38,68	16,42	-	20,99	21,20	20,09	-	26,44	-	21,79
<i>E</i> -cariofileno	1422	1417	1,06	5,59	1,58	1,72	1,11	1,34	3,00	-	0,55	0,78	2,58	3,49	3,76	3,12	1,32	1,41	1,69	6,84	2,53	2,54	0,94	-	0,34
trans- α -bergamoteno	1436	1436	0,34	-	-	-	-	-	-	-	0,13	-	-	-	-	1,25	4,58	0,68	0,27	1,09	0,31	0,44	-	-	-
α -selineno	1490	1489	0,76	3,71	3,70	1,44	1,53	2,30	3,03	1,24	0,70	0,84	1,28	5,36	5,06	2,16	0,52	-	1,54	-	-	-	2,35	0,34	0,56
β -selineno	1498	1498	0,70	3,43	2,69	1,22	1,13	1,43	2,62	0,25	0,41	0,67	1,08	4,23	3,77	1,43	0,37	0,92	-	-	-	-	1,95	2,16	0,23
óxido cariofileno	1585	1582	1,52	1,34	2,78	1,23	4,56	4,49	3,49	3,41	3,51	3,19	3,60	7,00	6,71	7,77	-	7,28	1,20	4,49	3,13	3,94	0,94	0,36	4,65
<i>Z</i> - α -trans-bergamol	1713	1713	1,27	-	-	-	-	-	-	0,48	-	1,35	-	-	-	3,32	-	0,50	0,12	2,17	0,42	0,44	-	-	2,33
TI			93,03	98,00	97,61	89,09	93,75	95,41	92,98	99,27	92,42	97,28	98,91	90,47	90,60	91,39	97,25	94,44	99,68	90,36	94,18	96,76	92,37	93,28	94,87
EO%			1,26	1,07	1,20	1,13	1,00	0,93	1,07	1,00	1,00	1,07	1,20	1,07	0,93	1,13	1,27	1,07	1,20	1,13	1,20	1,07	1,07	1,20	1,13

IRRo: índice de retenção relativo observado; IRRl: índice de retenção relativo da literatura (Adams, 2007); total identificados; EO%: teor do óleo essencial (%).

* Watanabe et al., 2005.

Tabela 3. Coeficientes de correlação para os compostos químicos dos óleos essenciais de plantas de *Myrcia ovata*, em Sergipe, Brasil.

Compostos	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22	C23	C24
C1		-0,27	0,15	-0,11	-0,08	-0,31	-0,26	-0,08	-0,11	-0,30	-0,13	-0,12	-0,28	0,62	-0,05	0,54	0,01	-0,05	-0,21	-0,01	-0,13	0,19	-0,30	-0,05
C2			0,85	0,27	0,00	-0,46	-0,44	-0,03	0,09	-0,48	0,49	0,51	-0,46	-0,35	0,69	-0,17	0,62	0,47	-0,01	0,11	0,32	0,17	0,20	0,12
C3				0,11	-0,11	-0,53	-0,49	0,00	0,06	-0,55	0,27	0,37	-0,53	-0,04	0,59	0,05	0,45	0,40	-0,18	0,03	0,33	0,30	0,19	0,10
C4					0,30	-0,19	-0,18	0,03	-0,06	-0,17	0,56	0,66	-0,20	-0,27	0,17	-0,32	0,21	0,16	0,15	-0,05	-0,34	-0,35	0,04	0,25
C5						-0,18	-0,19	-0,07	-0,07	-0,17	0,19	0,34	-0,12	-0,22	0,42	-0,27	0,28	0,36	0,02	-0,11	0,00	0,05	-0,31	0,08
C6							0,90	0,23	0,21	0,99	-0,14	-0,28	0,89	-0,34	-0,58	-0,37	-0,64	-0,72	-0,18	-0,15	-0,25	-0,32	-0,08	-0,32
C7								0,30	-0,19	0,91	-0,18	-0,35	0,88	-0,31	-0,50	-0,26	-0,51	-0,68	-0,11	0,01	-0,39	-0,44	-0,08	-0,29
C8									-0,07	0,26	0,04	0,01	0,37	-0,13	-0,21	-0,15	-0,25	-0,27	-0,02	-0,10	-0,17	-0,16	0,21	-0,13
C9										0,16	0,03	0,02	0,01	-0,10	-0,15	-0,11	-0,16	-0,16	-0,07	-0,10	0,31	0,26	-0,06	-0,14
C10											-0,14	-0,28	0,87	-0,33	-0,58	-0,38	-0,64	-0,70	-0,17	-0,16	-0,29	-0,36	-0,04	-0,30
C11												0,76	-0,17	-0,42	0,37	-0,46	0,27	0,34	-0,07	-0,22	-0,02	-0,06	-0,05	-0,01
C12													-0,30	-0,31	0,44	-0,55	0,21	0,46	-0,13	-0,51	0,19	0,17	0,11	0,05
C13														-0,32	-0,52	-0,27	-0,52	-0,70	-0,09	-0,02	-0,31	-0,35	-0,14	-0,33
C14															-0,25	0,81	-0,19	-0,23	-0,39	-0,08	-0,18	-0,03	-0,19	0,06
C15																-0,10	0,73	0,68	0,11	0,06	0,33	0,34	-0,17	-0,11
C16																	0,20	-0,29	-0,10	0,49	-0,24	-0,11	-0,35	-0,02
C17																		0,51	0,37	0,57	0,18	0,17	-0,19	0,02
C18																			0,32	-0,12	0,49	0,50	0,24	0,31
C19																				0,50	0,23	0,22	0,09	0,07
C20																					-0,25	-0,27	-0,21	0,13
C21																						0,93	0,27	-0,32
C22																							0,11	-0,36
C23																								0,38
C24																								

Compostos: (C1) α -pineno, (C2) β -pineno, (C3) *p*-cymeno, (C4) 1,8-cineol, (C5) linalol, (C6) neo isopulegol, (C7) isopulegol, (C8) citranelal, (C9) iso-isopulegol, (C10) neo iso-isopulegol, (C11) -terpinen-4-ol, (C12) α -terpineol, (C13) citranelol, (C14) neral, (C15) geranial, (C16) methyl nerolato, (C17) methyl<8-hidroxi-neo>, (C18) ácido nerólico, (C19) (E)-cariofileno, (C20) α -trans-bergamoteno, (C21) β -selineno, (C22) α -selineno, (C23) óxido cariofileno e (C24) Z- α -trans-bergamoteno.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (média \pm SEM) de *Lasiodiplodia theobromae* em função da concentração (v/v) de óleos essenciais de *Myrcia lundiana*, após 96 horas de incubação.

Concentração do óleo ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)	Grupo I	Grupo II	Grupo III
0,1	76,1 \pm 0,6	87,2 \pm 1,0	65,2 \pm 0,4
0,5	87,2 \pm 1,0	100,0 \pm 0,0	75,4 \pm 0,2
1,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0
5,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0
10,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0
CIM	0,5	0,1	0,5
CFM	1,0	0,5	1,0

Grupo I (MLUN005), grupo II (MLUN022) e grupo III (MLUN019). SEM = erro padrão, CIM = concentração inibitória mínima, CFM = concentração fungicida mínima.

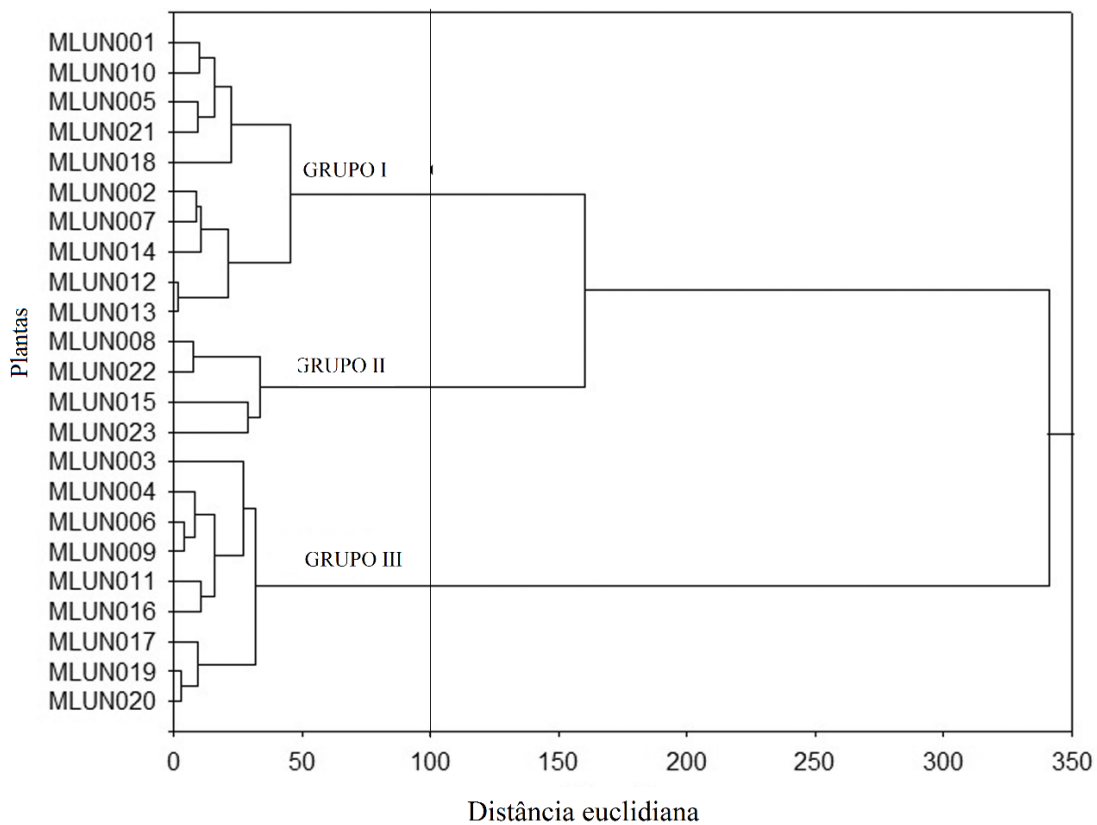


Figura 1 - Dendrograma bidimensional representando a diversidade entre 23 acessos de *Myrcia lundiana* para a composição química dos óleos essenciais.

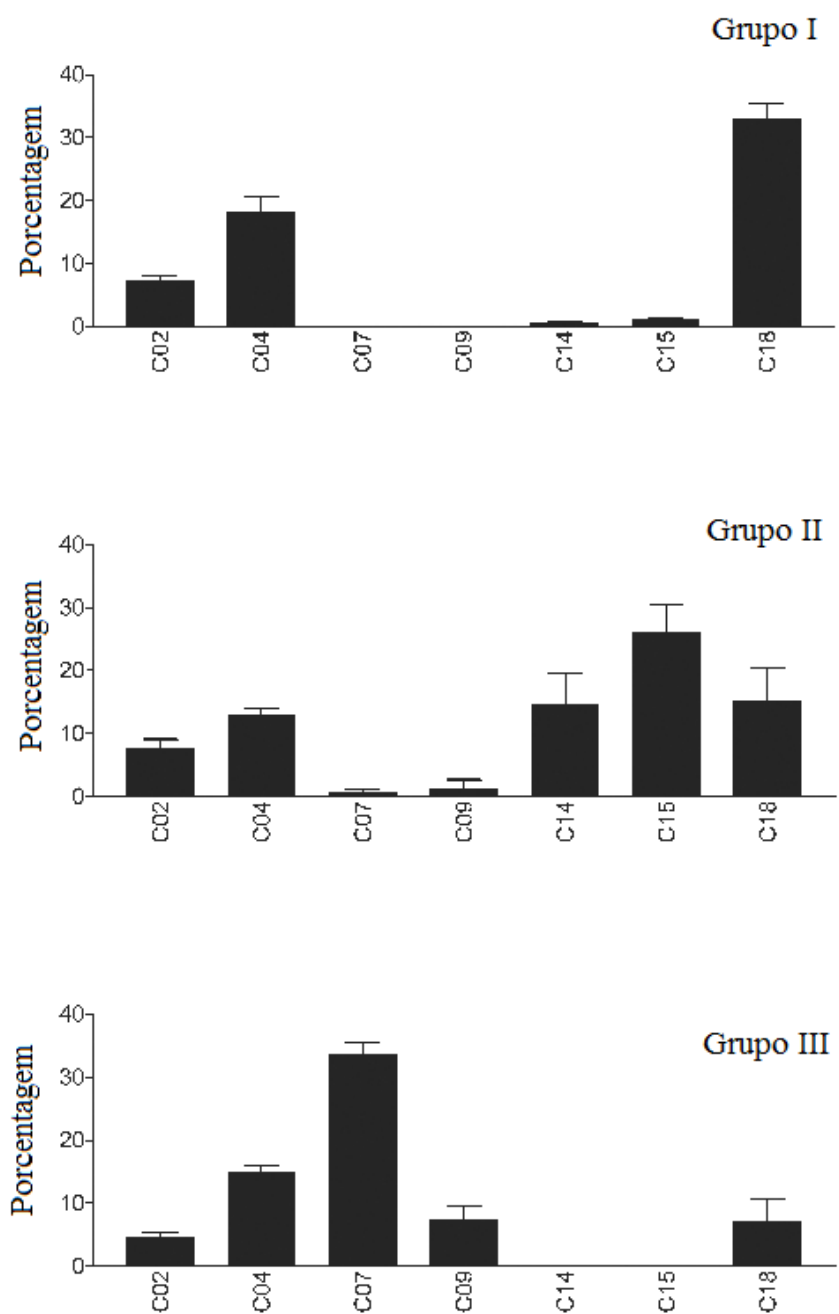


Figura. 2 - Médias dos compostos químicos dos óleos essenciais de plantas *M. lundiana*, grupo I a III. (C2) β -pineno, (C4) 1,8-cineol, (C7) isopulegol, (C9) iso-isopulegol, (C14), neral, (C15), o geranial, o (C18) de ácido nerólico.

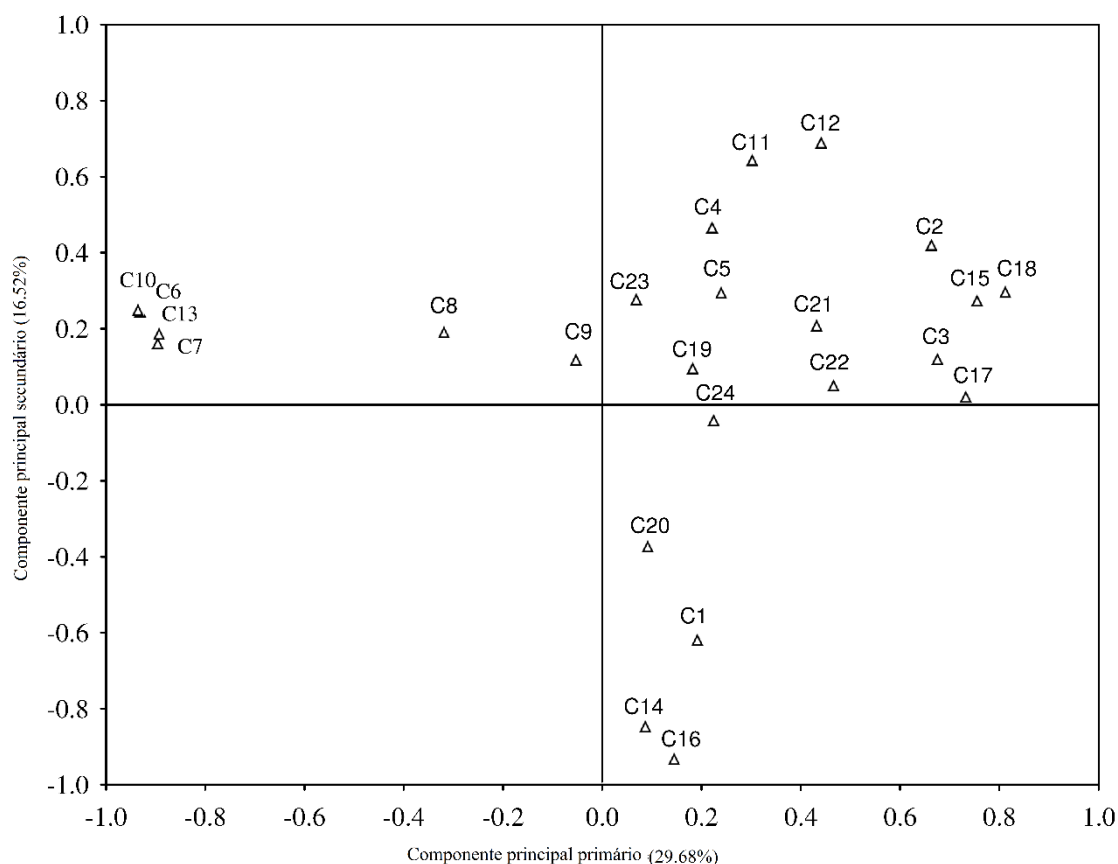


Figura. 3 - Distribuição dos compostos químicos do óleo essencial de 23 acessos de *M. lundiana* em relação aos componentes principais por meio da análise de componentes principais (ACP). (C1) α -pineno, (C2) β -pineno, (C3) *p*-cymeno, (C4) 1,8-cineol, (C5) linalol, (C6) neo isopulegol, (C7) isopulegol, (C8) citronelal, (C9) iso-isopulegol, (C10) neo iso-isopulegol, (C11) -terpinen-4-ol, (C12) α -terpineol, (C13) citronelol, (C14) neral, (C15) geranial, (C16) methyl nerolato, (C17) methyl<8-hidroxi-neo>, (C18) ácido nerólico, (C19) (E)-cariofileno, (C20) trans- α -bergamoteno, (C21), α -salineno, (C22) β -salineno, (C23) óxido cariofileno e (C24) Z- α -trans-bergamoteno.

**CAPÍTULO II: ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE UMA
POPULAÇÃO NATIVA DE *Myrcia lundiana* KIAERSK., UTILIZANDO
MARCADORES ISSR**

Título: Análise da diversidade genética de *Myrcia lundiana*

M. F. Alves¹; T.S. Sampaio¹; D.A.C. Nizio¹, F.A. Brito¹; A.V.C. Silva², M.F. Arrigoni-Blank¹, S.V.A. Carvalho¹, A.F. Blank¹

Afiliações de autores:

¹Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais e Óleos Essenciais, Departamento de Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brasil

²Laboratório de Biotecnologia Molecular, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, Brasil

Autor correspondente: A.F. Blank

Endereço: UFS/DEA – Av. Marechal Rondon s/n, Bairro Rosa Elze, São Cristóvão-SE, Brazil, CEP 49100-000

E-mail: afblank@ufs.br

Telefone: +55-79-31946981

Fax: +55-79-31946474

Artigo publicado no periódico Genetics and Molecular Research; v. 15, p. 1- 10, 2016.

RESUMO

A *Myrcia lundiana* Kiaersk é uma árvore da família das Myrtaceae, encontrada em áreas tropicais e subtropicais do hemisfério sul que produz óleo essencial. O objetivo deste estudo foi caracterizar a diversidade genética de uma população nativa de *M. lundiana* de uma população nativa do “Parque Nacional de Itabaiana” por meio de marcadores moleculares (ISSR). Trinta e cinco primers foram testados, sendo 20 polimórficos, resultando em 135 bandas polimórficas e informativas. Os resultados da análise de agrupamento, obtidos utilizando o método do grupo de pares não ponderado com média aritmética, agruparam as plantas em três grupos: Grupo I - MLU001, MLU002, MLU003, MLU004, MLU005, MLU006, MLU018, MLU019, MLU020, MLU021, MLU022; MLU008, MLU011, MLU012, MLU014, MLU015, MLU017, MLU026 e MLU028; Grupo II - MLU007, MLU009, MLU010, MLU013 e MLU016; e Grupo III - MLU023, MLU024, MLU025 e MLU027. Os coeficientes de similaridade de Jaccard para as comparações entre pares de plantas variaram entre 0,15 e 0,87. MLU014 e MLU015 apresentaram baixa diversidade genética, com índice de similaridade de 0,87. Inversamente, MLU007 e MLU019 apresentaram alta diversidade, com índice de similaridade de 0,15. De acordo com a análise da estrutura, foram formados três grupos distintos. A diversidade genética de plantas de *M. lundiana* foi intermediária, sendo necessária expansão de sua diversidade genética. MLU026 e MLU028 são os mais adequados para seleção em programas de melhoramento, pois representam claramente toda a diversidade presente nessas plantas. Além disso, esses resultados fornecem informações importantes sobre a variabilidade genética existente, destacando a importância do “Parque Nacional de Itabaiana” para a conservação desta espécie.

Palavras-chave: *Myrcia lundiana*; Conservação; Diversidade; ISSR

1. Introdução

Myrcia lundiana Kiaersk, popularmente conhecida como "canela-de-tabuleiro", é uma espécie medicinal da família Myrtaceae, encontrada em áreas tropicais e subtropicais do hemisfério sul (Govaerts et al., 2008). Na medicina popular, espécies do gênero *Myrcia* têm sido utilizadas como adstringentes, diuréticos, e para o tratamento de diabetes mellitus, hipertensão, doenças gástricas, e diarreia (Russo et al., 1990). Embora haja pouca informação sobre a atividade biológica de *M. lundiana*, um estudo recente mostrou o potencial antifúngico de seu óleo essencial sobre o *Lasioidiploidia theobromae* (Alves et al., 2016).

A busca por novas moléculas e substâncias bioativas obtidas a partir de fontes naturais têm alertado para a necessidade de estudos visando uma melhor conservação e manutenção da diversidade genética de espécies de plantas potencialmente úteis. A abertura de estradas, a construção de usinas hidrelétricas, atividades extrativistas, entre outras atividades antrópicas, têm causado grande impacto sobre a diversidade de muitas espécies da fauna e flora. Assim, torna-se necessário gerir os recursos genéticos, a fim de preservar a diversidade genética dentro das espécies. No entanto, sem informações sobre a distribuição desta variabilidade entre e dentro das populações, decisões importantes em matéria de gestão e conservação destes recursos não pode ser tomada (Lima et al., 2015). O conhecimento e a organização da variabilidade genética de qualquer espécie de planta é um passo importante para a exploração, a definição de estratégias de conservação genética, e para programas de melhoramento (Setotaw et al., 2010). Devido à importância de várias espécies medicinais, tanto para uso popular ou para a indústria farmacêutica, vários estudos sobre a diversidade genética em populações nativas têm sido realizados, como em *Senna reticulata* (Lima et al., 2015), *Pilocarpus pennatifolius* (Bandeira et al., 2010), *Pothomorphe umbellata* (Valle et al., 2013) e *Annona crassiflora* (Telles et al., 2003).

O estudo da diversidade genética em espécies de plantas é geralmente realizado utilizando marcadores moleculares. Entre eles, deve-se destacar as repetições de sequência simples (ISSR). Estes marcadores são dominantes e permitem a análise de múltiplos loci numa única reação devido à sua abundância e dispersão dentro do genoma. Além disso, exibem alta reprodutibilidade e podem alcançar resultados de forma oportuna e econômica quando comparados com outros marcadores (Rodrigues,

2010). Os marcadores ISSR são eficientes em revelar a diversidade genética entre plantas medicinais e agrícolas, como acessos de *Varronia curassavica* e variedades locais de mandioca (Brito et al., 2016; Tiago et al., 2016).

Embora existam informações sobre a diversidade química do óleo essencial de *M. lundiana* de uma população nativa de Sergipe (Alves et al., 2016), não há relatos na literatura sobre estudos genéticos envolvendo desta espécie. Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar a diversidade genética de uma população nativa de *M. lundiana* do estado de Sergipe, utilizando marcadores moleculares ISSR.

2. Material e Métodos

2.1. Material Vegetal

Foram coletadas folhas jovens de 28 plantas *M. lundiana* de uma população nativa do município do “Parque Nacional de Itabaiana”, Areia Branca, Sergipe, Brasil (Tabela 1). Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em gaze estéril e armazenadas em gelo para evitar a oxidação. O material foi congelado a -80°C até a liofilização em um LioTop (Liobras, São Carlos, SP, Brasil). Após a liofilização, as amostras foram armazenadas em dessecador contendo gel de sílica até a extração do DNA.

2.2. Extração do DNA e amplificação PCR-ISSR

A extração do DNA seguiu os procedimentos descritos por Doyle e Doyle (1990), (1990) modificado por Alzate-Marin et al. (2005) para a obtenção de DNA com as características requeridas nos seguintes passos. O DNA foi diluído e subsequentemente padronizado e quantificado utilizando o NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, EUA). Os *primers* ISSR utilizados neste estudo foram das marcas Eurofins MWG Operon (Tecnologias Operon, Louisville, KY, EUA), IDT (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, EUA) e Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, EUA). Trinta e cinco *primers* foram testados para amplificação por PCR. A PCR foi realizada num volume total de 20 μL , contendo 1,0 μL de DNA genômico (10 $\text{ng}/\mu\text{L}$), 0,2 μL de Taq polimerase de *Thermus aquaticus* recombinante, expressa em *Escherichia coli* (Sigma-Aldrich) (0,05 unidades / μL) e 2 μL de tampão 10X (Tris-HCl 100 mM, pH 8,3, KCl 500 mM, MgCl_2 15 mM e gelatina

0,01%) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), 0,4 µL de dNTP (2,5 mM), 1,0 µL de *primer* (25,0 pmol) e 15,4 µL de água ultrapura autoclavada.

A amplificação por PCR foi realizada num termociclador ProFlex PCR (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) programado com o seguinte protocolo: 5 min a 94 ° C; 45 ciclos de 40 s a 94 ° C; 30 s variando entre 50,4 e 53 ° C, de acordo com a temperatura de anelamento utilizada para cada *primer* (Tabela 2); 1 min a 72 ° C; e uma extensão final durante 7 min a 72 ° C. Os produtos de amplificação foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio, visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentado. Os pesos moleculares foram estimados utilizando uma escala de DNA de 1 kb Ludwig para cada *primer*.

2.3. Análise dos dados

Os fragmentos de DNA amplificado foram analisados quanto à presença (1) ou ausência (0) de bandas de tamanho igual, e foi construída uma matriz binária. Com base nessa matriz binária, foi calculado o coeficiente de similaridade de Jaccard entre cada par de indivíduos (Jaccard, 1908). Foram utilizados coeficientes de similaridade para construir um dendrograma pelo método do grupo de pares não ponderado com média aritmética (UPGMA). Estas análises foram realizadas utilizando o software NTSYSpc 2.0 (Rohlf, 2001).

O índice de Shannon (I) e o índice marcador (MI) foram calculados utilizando o software GENALEX 6.5 (Peakal e Smouse, 2012). A ESTRUTURA v.2.3.3 foi utilizada para analisar a estrutura genética usando um método de agrupamento Bayesiano (Hubisz et al., 2009). Utilizou-se o modelo de "adição" com frequências de alelos correlacionadas e simulações foram realizadas com uma queima de 100.000 gerações e valores de K variando de 2 a 6 grupos. O número de grupos (K) foi determinado utilizando STRUCTURE HARVESTER (Earl e vonHoldt, 2012).

3. Resultados

Um alto nível de polimorfismo foi encontrado nos marcadores ISSR entre as 28 plantas de *M. lundiana* de uma população nativa do “Parque Nacional de Itabaiana”, no estado de Sergipe. As localizações das bandas podem ser visualizadas nas imagens geradas pela fotodocumentação dos géis de agarose (Figura 1). Dos 35 *primers* testados,

20 foram polimórficos, uma vez que apresentaram bons padrões de amplificação, com 144 bandas amplificadas observadas, sendo 135 polimórficas. Isto corresponde a 93,75% de polimorfismo, variando de 3 (UBC826) a 17 (UBC815), e um número médio de 7,20 bandas por *primer* (Tabela 2).

O coeficiente de similaridade usado para calcular a similaridade genética entre as 28 plantas de *M. lundiana* avaliadas a partir dos marcadores ISSR variaram entre 0,15 e 0,87 com média de 0,49. Baixa diversidade genética foi observada entre MLU014 e MLU015, com índice de similaridade de 0,87, representando as plantas geneticamente mais semelhantes entre todos os pares avaliados. Por outro lado, MLU007 e MLU019 exibiram a maior diversidade, com um índice de similaridade de 0,15. Houve 23 combinações de genótipos com diversidade genética intermediária (0,60 a 0,78), e outras combinações com alta diversidade genética, uma vez que seus valores de similaridade no grupo foram abaixo de 0,6 (0,24 a 0,59; Tabela 3).

Por meio da análise de agrupamento, três grupos foram formados de acordo com as distâncias genéticas de plantas (Figura 2). Grupo I: (67,86% das plantas) MLU001, MLU002, MLU003, MLU004, MLU005, MLU006, MLU018, MLU019, MLU020, MLU021, MLU022; MLU008, MLU011, MLU012, MLU014, MLU015, MLU017, MLU026 e MLU028, com índices de similaridade de Jaccard 0,4 e 0,87; Grupo II (17,86% de plantas) apresentaram índices de similaridade entre 0,6 e 0,78, e foi formado pelas calças MLU007, MLU009, MLU010, MLU013 e MLU016; e Grupo III (14,29% de plantas) mostrou índices de similaridade entre 0,4 e 0,78, e foi formado pelas plantas MLU023, MLU024, MLU025 e MLU027.

Para determinar os padrões de diferenciação genética populacional, análise Bayesiana foi levada a cabo pelo software Structure e, de acordo com o método ΔK , o número mais provável de grupos foi $K = 3$ (Figura 3). A visualização gráfica da estrutura da populacional permitiu a identificação de duas plantas, MLU026 e MLU028, que continham uma mistura do material genético dos três grupos.

4. Discussão

Verificou-se que a população nativa de *M. lundiana* possui diversidade genética intermediária com base nos valores dos parâmetros de diversidade avaliados e pela divisão das 28 plantas em três grupos. Os resultados de diversidade genética obtidos neste estudo foram semelhantes aos relatados em um estudo sobre a diversidade química

de uma população de *M. lundiana* por Alves et al. (2016), que detectou alta diversidade química, e divisão em três grupos químicos.

O índice de Shannon (I) apresentou um valor médio baixo (0,46), que foi inferior a 0,5. Esse índice de diversidade genética pode variar de 0 a 1, com menor diversidade genética representada por valores mais próximos de zero (Silva et al., 2011). Heterozigosidade, ou o índice de Nei, que mede a variabilidade genética que estima a variação entre indivíduos relacionados, foi considerado baixo, com um valor médio de 0,30.

O gráfico de barras obtido pela análise Bayesiana usando o software Structure mostrou a formação de três grupos definidos pelas cores azul, vermelho e verde. MLU026 e MLU028 apresentaram parte de cada grupo, o que indica que estas plantas estão provavelmente localizadas dentro de um ponto de transição e / ou uma região de intenso intercâmbio de material genético. Tais plantas devem ser priorizadas para preservação, uma vez que podem ser úteis em futuros estudos visando o melhoramento genético da espécie.

Pouca informação está disponível sobre a história da área de estudo. Entretanto, corredores de vegetação na paisagem estudada são de grande importância. O nível intermediário de diversidade genética observado no presente estudo pode ser explicado pelo tipo de polinização de *M. lundiana* (entomofilia), pela dispersão dos diásporos (zoocoria), pela proximidade das plantas e pelo fato de serem interligados por corredores de vegetação.

Devido à importância de muitas espécies de plantas medicinais para uso popular, ou mesmo para uso na indústria farmacêutica, muitos estudos sobre a diversidade genética de populações nativas foram realizados. Em estudos com *Senna reticulata* e *Pothomorphe umbellata*, observou-se alta diversidade genética em populações nativas (Valle et al., 2013; Lima et al., 2015). Bandeira et al. (2010) observaram baixa diversidade genética entre populações nativas de Jaborandi.

Poucos estudos usando marcadores ISSR foram relatados em plantas da família Myrtaceae. Ao estudar a estrutura genética espacial em escala fina de *M. splendens* em ambientes com fragmentos e em suas conexões, Brandão et al. (2011) observaram altos níveis de diversidade genética dentro das populações. Oliveira et al. (2014), ao estudar a distância genética entre plantas do gênero *Psidium* utilizando marcadores ISSR, observou alta variabilidade entre genótipos de goiaba, o que permite o cruzamento de

genótipos superiores com alta divergência. Mani et al. (2011), ao avaliar as distâncias genéticas em diferentes espécies de *Psidium* spp., obteve um total de 234 bandas polimórficas em 31 marcadores ISSR. Silva et al. (2011) avaliaram a variabilidade de plantas do gênero *Manihot*, e obtiveram um total de 154 bandas polimórficas usando 20 *primers*.

O uso de técnicas modernas, como as que envolvem marcadores moleculares, é extremamente importante em programas de melhoramento genético. Isto é devido à precisão das informações presentes no genoma, uma vez que não é afetada pelo ambiente.

De acordo com Celestino et al. (2015), as ferramentas moleculares são cruciais para a caracterização da diversidade genética em plantas aromáticas e medicinais, isto é, embora as características agrônômicas e químicas distingam os genótipos dos grupos, a composição de óleos essenciais pode ser alterada por fatores ambientais.

A diversidade genética de plantas de *M. lundiana* de uma população nativa do “Parque Nacional de Itabaiana”, no estado de Sergipe, Brasil, é intermediária. As plantas MLU026 e MLU028 foram as mais adequadas para seleção em programas de melhoramento desta espécie, uma vez que possuem toda a diversidade genética presente nessas plantas. Os resultados encontrados neste estudo são importantes para a conservação desta espécie e destacam a necessidade de aumentar o número de marcadores moleculares, bem como o número de amostras para o estudo da diversidade genética no “Parque Nacional de Itabaiana”.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, FAPITEC/SE, CAPES, FINEP e RENORBIO pelo suporte financeiro dado para realização deste trabalho.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram que não existe conflitos de interesse.

5. Referências

- Alzate-Marin AL, Guidugli MC, Soriani HH and Mestriner MA (2005). Otimização de um método econômico e rápido de extração de DNA para quatro espécies de árvores tropicais. In: Anais do 51º Congresso Brasileiro de Genética, Águas de Lindóia.
- Alves MF, Nizio DAC, Sampaio TS, do Nascimento Jnr AF, et al. (2016). *Myrcia lundiana* Kiaersk native populations have different essential oil composition and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. *Ind. Crops Prod.* 85: 266-273.
- Bandeira AJ, Deimling LI and Georg-Kraemer JE (2010). Variabilidade genética do jaborandi (*Pilocarpus pennatifolius* Lemaire; Rutaceae) em populações naturais da região noroeste do Rio Grande do Sul. *Revista de Iniciação Científica da ULBRA* 8: 43-51.
- Brandão MM, Viera FA and Carvalho D (2011). Estrutura genética em microescala espacial de *Myrcia splendens* (Myrtaceae) *Rev. Árvore* 35: 957-964.
- Brito AB, Nizio DAC, Silva DAC, Diniz LE, et al. (2016). Genetic diversity analysis of *Varronia curassavica* Jacq. accessions by using ISSR markers. *Genet. Mol. Res.* 15: doi.10.4238/gmr.15038681
- Celestino RS, Zucchi MI, Pinheiro JB, Campos JB, et al. (2015). Molecular and chemical characterization of vetiver, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty, germplasm. *Genet. Mol. Res.* 14: 9452-9468.
- Doyle JJ and Doyle JL (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Earl DA and vonHoldt BM (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4: 359-361.
- Govaerts R, Sobral M, Ashton P, Barrie F, et al. (2008). World checklist of Myrtaceae. Royal Botanic Gardens, Kew. 455p.
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M and Pritchard JK (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* 9: 1322-1332.
- Jaccard P (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 44: 223-270.

- Lima RA, Lopes MTG, Bentes JLS, Valente MSF, et al. (2015). Diversidade e estrutura genética de *Senna reticulata*. *Floresta* 45: 507-514.
- Mani A, Mishra R and Thomas G (2011). Elucidation of diversity among *Psidium* species using morphological and SPAR methods. *J. Phytol.* 3: 53-61.
- Oliveira NNS, Viana AP, Quintal SSR, Paiva CL, et al. (2014). Análise de distância genética entre plantass do gênero *Psidium* via marcadores ISSR. *Rev. Bras. Frutic.* 36: 917-923.
- Peakall R and Smouse PE (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Rodrigues JF (2010). Delimitação de espécies e diversidade genética no complexo *Cattleya coccínea* Lindl. e *C. Mantiqueirae* (Flowie) Van der Berg (*Orchidaceae*) baseada em marcadores moleculares ISSR. Master's Dissertation ESALQ/USP. Piracicaba, 81f.
- Rohlf FJ (2001). NTSYSpc: numerical taxonomy system, Version 2.0. Exeter Publishing, Setauket.
- Russo EM, Reichelt AA, De-Sa JR, Furlanetto RP, et al. (1990). Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 23: 11-20.
- Setotaw TA, Dias LDS and Missio RF (2010). Genetic divergence among barley accessions from Ethiopia. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 10: 116-123.
- Silva KVP, Alves AAC, Martins MIG, Melo CAF, et al. (2011). Variabilidade genética entre plantas do gênero *Manihot* por meio de marcadores moleculares ISSR. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 46: 1082-1088.
- Telles MPC, Valva FD, Bandeira LF and Coelho AG (2003). Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. - Annonaceae) no Estado de Goiás. *Revista Brasil. Bot.* 26: 123-129.
- Tiago AV, Rossi AAB, Tiago PV, Carpejani AA, et al. (2016). Genetic diversity in cassava landraces grown on farms in Alta Floresta-MT, Brazil. *Genet. Mol. Res.* 15. doi.10.4238/gmr.15038615
- Valle JS, Fonseca BKD, Nakamura SS, Linde GA, et al. (2013). Diversidade genética de populações naturais de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] por RAPD. *Rev. Bras. Plantas Med.* 15: 47-53.

Tabela 1. Identificação de uma população nativa de 28 plantas de *Myrcia lundiana* do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil

Planta	Informação georreferenciada
MLU001	11°44'17,9"S; 37°52'0,80"W
MLU002	10°44'57,0"S; 37°20'24,6"W
MLU003	10°44'58,0"S; 37°20'26,2"W
MLU004	10°44'58,0"S; 37°20'25,0"W
MLU005	10°44'57,7"S; 37°20'24,6"W
MLU006	10°44'57,5"S; 37°20'26,0"W
MLU007	10°44'57,5"S; 37°20'26,1"W
MLU008	10°44'56,2"S; 37°20'26,3"W
MLU009	10°44'58,1"S; 37°20'26,1"W
MLU010	10°45'00,0"S; 37°20'26,0"W
MLU011	10°44'57,7"S; 37°20'24,3"W
MLU012	10°44'56,2"S; 37°20'26,5"W
MLU013	10°45'8,30"S; 37°20'27,5"W
MLU014	10°44'57,5"S; 37°20'26,5"W
MLU015	10°44'54,5"S; 37°20'27,9"W
MLU016	10°44'56,5"S; 37°20'24,0"W
MLU017	10°44'16,6"S; 37°52'00,5"W
MLU018	10°44'58,2"S; 37°20'26,1"W
MLU019	10°44'56,8"S; 37°20'24,0"W
MLU020	10°44'57,5"S; 37°20'26,0"W
MLU021	10°44'57,6"S; 37°20'26,1"W
MLU022	10°45'8,10"S; 37°20'17,5"W
MLU023	10°45'8,10"S; 37°20'18,5"W
MLU024	10°45'00,0"S; 37°20'26,0"W
MLU025	10°44'57,7"S; 37°20'24,3"W
MLU026	10°45'00,0"S; 37°20'26,0"W
MLU027	10°44'57,7"S; 37°20'24,3"W
MLU028	10°45'00,0"S; 37°20'26,0"W

Tabela 2. Temperatura de anelamento, sequência e os produtos amplificados utilizado para a análise de diversidade genética em *M. lundiana* a partir de uma população nativa do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil.

Nome do primer	Sequência (5'-3')	Lenght (bp)	T° de anelamento	Total de bandas	Bandas polimórficas	Polimorfismo (%)
ISSR1	CAC ACA CAC ACA GG	500-2000	51,5°C	9	9	100,0
ISSR3	CTC TCT CTC TCT CTC TTG	750-2000	51,5°C	8	8	100,0
ISSR5	CTC TCT CTC TCT CTC TGC	1000-1500	51,5°C	6	6	100,0
ISSR7	CAC ACA CAC ACA GT	1500-2000	51,5°C	4	4	100,0
ISSR8	GAG AGA GAG AGA GG	1500-2000	52,8°C	9	9	100,0
ISSR9	GTG TGT GTG TGT GG	1500-2000	55,0°C	9	9	100,0
ISSR10	GAG AGA GAG AGA CC	500-1500	52,0°C	5	5	100,0
ISSR11	GTG TGT GTG TGT CCC	750-2000	52,0°C	8	8	100,0
UBC810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	500-1000	50,4°C	8	8	100,0
UBC811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	500-1000	53,0°C	4	4	100,0
UBC815	CTC TTC TCT CTC TCT CTG	500-2000	52,8°C	17	16	94,12
UBC817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	750-2000	50,4°C	11	9	81,82
UBC823	TCT CTC TCT CTC TCT CC	750-1500	50,4°C	5	5	100,0
UBC826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	750-1500	52,8°C	3	3	100,0
UBC834	AGA GAG AGA GAG AGY T	750-2000	52,8°C	6	0	00,00
UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	1500-2000	55,0°C	4	4	100,0
UBC855	ACA CAC ACA CAC ACY T	500-2000	53,0°C	5	5	100,0
UBC856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	500-1500	50,4°C	8	8	100,0
UBC857	ACA CAC ACA CAC ACY G	750-2000	53,0°C	9	9	100,0
UBC858	TGT GTG TGT GTG TGT GRT	500-2000	53,0°C	6	6	100,0

Tabela 3. Matriz gerada com base no coeficiente de similaridade de Jaccard a partir de uma população nativa de 28 plantas de *Myrcia lundiana* do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil

Plants	MLU001	MLU002	MLU003	MLU004	MLU005	MLU006	MLU007	MLU008	MLU009	MLU010	MLU011	MLU012	MLU013	MLU014	MLU015	MLU016	MLU017	MLU018	MLU019	MLU020	MLU021	MLU022	MLU023	MLU024	MLU025	MLU026	MLU027	MLU028	
MLU001	-																												
MLU002	0,78	-																											
MLU003	0,69	0,69	-																										
MLU004	0,68	0,81	0,71	-																									
MLU005	0,70	0,80	0,74	0,84	-																								
MLU006	0,65	0,72	0,59	0,66	0,72	-																							
MLU007	0,26	0,30	0,24	0,33	0,26	0,34	-																						
MLU008	0,61	0,59	0,56	0,65	0,61	0,54	0,36	-																					
MLU009	0,24	0,27	0,26	0,31	0,28	0,34	0,66	0,38	-																				
MLU010	0,23	0,26	0,29	0,34	0,34	0,34	0,67	0,36	0,78	-																			
MLU011	0,55	0,61	0,51	0,59	0,66	0,69	0,35	0,60	0,37	0,38	-																		
MLU012	0,47	0,54	0,54	0,53	0,59	0,65	0,33	0,57	0,39	0,37	0,70	-																	
MLU013	0,34	0,40	0,29	0,38	0,36	0,43	0,71	0,34	0,57	0,59	0,48	0,38	-																
MLU014	0,50	0,57	0,50	0,56	0,54	0,62	0,47	0,69	0,42	0,41	0,72	0,72	0,51	-															
MLU015	0,52	0,60	0,51	0,58	0,60	0,69	0,47	0,65	0,44	0,43	0,76	0,81	0,49	0,87	-														
MLU016	0,25	0,28	0,33	0,28	0,32	0,35	0,60	0,33	0,68	0,62	0,40	0,43	0,66	0,43	0,48	-													
MLU017	0,55	0,52	0,61	0,53	0,51	0,58	0,40	0,59	0,38	0,38	0,63	0,66	0,46	0,77	0,79	0,44	-												
MLU018	0,78	0,68	0,76	0,70	0,68	0,66	0,26	0,57	0,25	0,25	0,53	0,49	0,34	0,47	0,49	0,29	0,58	-											
MLU019	0,60	0,65	0,58	0,69	0,69	0,57	0,15	0,52	0,18	0,17	0,48	0,45	0,26	0,42	0,44	0,19	0,41	0,71	-										
MLU020	0,70	0,71	0,76	0,72	0,72	0,60	0,22	0,54	0,24	0,23	0,54	0,49	0,32	0,50	0,49	0,29	0,62	0,86	0,70	-									
MLU021	0,68	0,74	0,67	0,82	0,83	0,67	0,27	0,62	0,28	0,27	0,58	0,54	0,35	0,52	0,54	0,31	0,50	0,78	0,80	0,80	-								
MLU022	0,71	0,82	0,65	0,79	0,74	0,68	0,32	0,59	0,26	0,26	0,55	0,54	0,40	0,57	0,57	0,28	0,52	0,81	0,73	0,78	0,82	-							
MLU023	0,46	0,40	0,54	0,50	0,45	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,25	0,23	0,29	0,24	0,25	0,30	0,33	0,53	0,38	0,54	0,50	0,45	-						
MLU024	0,50	0,45	0,53	0,49	0,43	0,35	0,37	0,44	0,41	0,37	0,29	0,25	0,34	0,31	0,30	0,33	0,38	0,56	0,40	0,59	0,50	0,50	0,81	-					
MLU025	0,32	0,36	0,34	0,39	0,35	0,42	0,42	0,33	0,51	0,47	0,31	0,30	0,38	0,33	0,32	0,40	0,29	0,41	0,34	0,41	0,43	0,42	0,58	0,60	-				
MLU026	0,49	0,46	0,55	0,48	0,44	0,48	0,30	0,55	0,36	0,34	0,54	0,56	0,28	0,56	0,58	0,30	0,71	0,59	0,42	0,60	0,50	0,50	0,45	0,45	0,42	-			
MLU027	0,32	0,26	0,34	0,26	0,28	0,32	0,44	0,30	0,51	0,47	0,33	0,40	0,40	0,33	0,40	0,45	0,46	0,38	0,21	0,40	0,32	0,29	0,48	0,52	0,47	0,51	-		
MLU028	0,64	0,62	0,63	0,55	0,59	0,52	0,24	0,54	0,28	0,26	0,55	0,54	0,35	0,49	0,54	0,33	0,61	0,69	0,55	0,74	0,66	0,60	0,43	0,45	0,30	0,63	0,51	-	

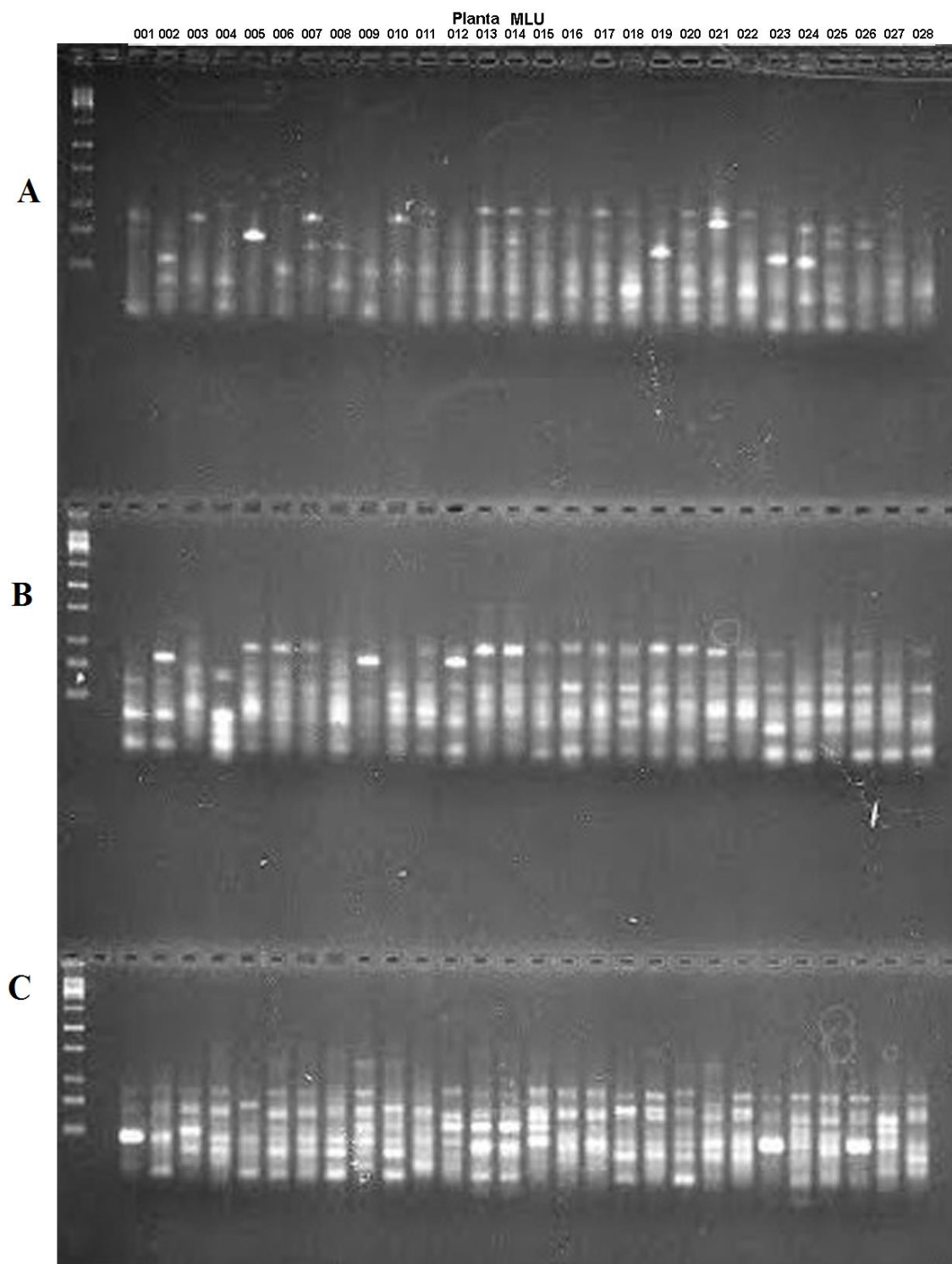


Figura 1. Géis de agarose mostrando os perfis eletroforéticos de ISSR amplificada utilizando iniciadores UBC856 (A), UBC823 (B) e UBC835(C) a partir de uma população nativa de 28 plantas de *Myrcia lundiana* do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil.

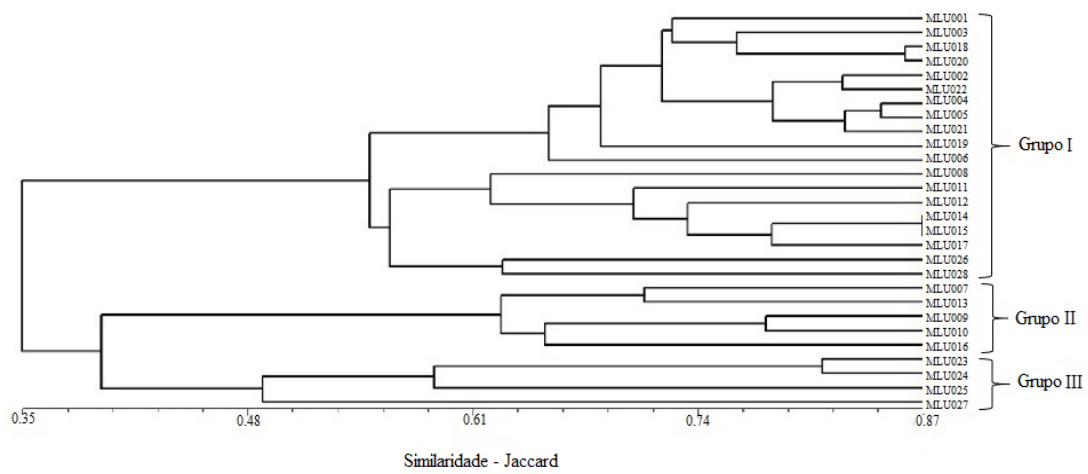


Figura 2: Dendrograma gerado pela análise UPGMA dos índices de similaridade de Jaccard a partir de uma população nativa de 28 plantas de *Myrcia lundiana* do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil.

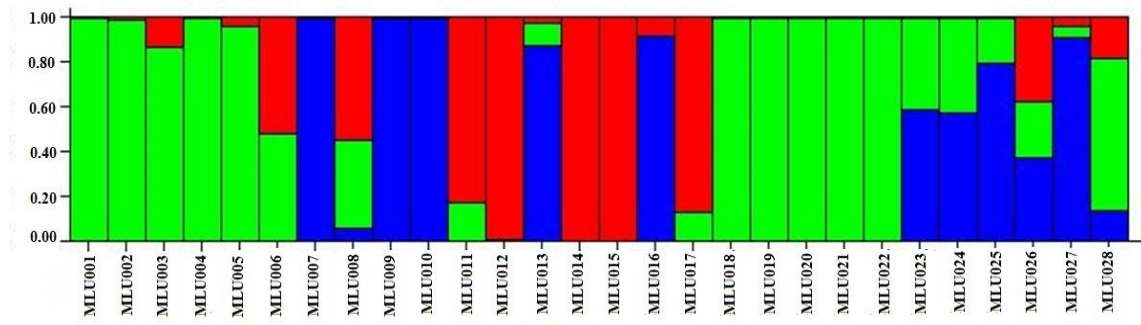


Figura 3. Resultados do STRUCTURE a partir de uma população nativa de 28 plantas de *Myrcia lundiana* do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil, com $K = 3$. Cada barra vertical representa uma adesão, com a cor indicando associação do grupo.

**CAPÍTULO III: QUIMIOTIPOS DE *Myrcia lundiana* KIAERSK E SEUS
COMPOSTOS MAJORITÁRIOS APRESENTAM ATIVIDADES
DIFERENCIADAS SOBRE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS**

Mércia Freitas Alves, Daniela Aparecida de Castro Nízio, Fabiany de Andrade Brito, Taís Santos Sampaio, Juliana Oliveira de Melo, Paulo Roberto Gagliardi, Samisia Maria Fernandes Machado, Maria de Fátima Arrigoni-Blank, Arie Fitzgerald Blank*

Universidade Federal de Sergipe, Cidade Universitária Professor José Aloísio de Campos, Avenida Marechal Rondon s/n, Rosa Elze, CEP 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil.

*Autor correspondente

Telefone 55-79-31946981

Fax 55-79-31946474

E-mail: arie.blank@gmail.com (A.F. Blank)

RESUMO

No presente trabalho avaliou-se a atividade antifúngica de óleos essenciais de quimiotipos de *Myrcia lundiana* dos seus compostos majoritários sobre os fungos *Fusarium pallidorozeum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae*. Os óleos essenciais foram obtidos hidrodestilação e analisados por CGEM/DIC. Para avaliação da atividade antifúngica foram testados os óleos essenciais e os compostos majoritários nas concentrações: 0,1 mL/L até encontrar o efeito fungicida. Os principais compostos presentes no óleo essencial foram 1,8-cineol, isopulegol e citral. Os quimiotipos (MLU-005 e MLU-019) proporcionaram 100% de inibição do crescimento micelial para o fungo *F. pallidorozeum* a partir da concentração 1,1 mL/L (Concentração Inibitória Mínima – CIM), para o quimiotipo (MLU-022) melhor concentração fungicida mínima (CFM) de 0,3 mL/L. Para *F. solani*, os óleos essenciais dos quimiotipos (MLU-005 e MLU-019) apresentaram CIM nas concentrações de 7,0 e 5,0 mL/L. O óleo essencial do quimiotipo (MLU-022) apresentou CFM de 0,6 mL/L. Observou-se CIM diferenciado para os três quimiotipos estudados para o fungo *C. musae*, variando de 0,4 mL/L para o quimiotipo (MLU-005), 0,5 mL/L para o quimiotipo (MLU-022) e 0,7 mL/L para o quimiotipo (MLU-019), apresentando melhor CFM para o quimiotipo MLU-005 de 0,5 mL/L. Os compostos majoritários testados separadamente, apresentaram melhores valores de CIM frente aos seus quimiotipos, exceto, para o composto 1,8-cineol, que apresentou menor inibição do crescimento micelial para os três fungos testados, sugerindo que o perfil químico ou a presença de algum outro composto presente no óleo essencial pode estar atuando na inibição do crescimento dos três fungos estudados. O composto isopulegol, proporcionou menor CFM para o fungo *C. musae* (0,4517 mL/L), em relação aos fungos *F. pallidorozeum* e do *F. solani* onde apresentou CFM de 0,4927 mL/L. O composto citral proporcionou um menor CFM sobre o fungo *C. musae* (0,1668 mL/L), em relação aos demais fungos testados. Os óleos essenciais de quimiotipos de *M. lundiana* e seus compostos majoritários apresentaram potencial para o controle dos fitopatógenos estudados, podendo ser considerados como uma alternativa para a agricultura, uma vez que em concentrações mais baixas apresentaram efeito inibitório e fungicida frente a estes organismos.

Palavras chave: *Myrcia lundiana*, óleo essencial, controle alternativo, *Fusarium pallidorozeum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae*.

1.Introdução

O crescimento populacional diminuiu as áreas apropriadas ao cultivo agrícola e aumentou a demanda por alimentos. As previsões de crescimento populacional revelam que no ano de 2050 a população mundial chegue aos nove bilhões de habitantes (Carrer et al., 2010). Tornando um desafio a produção de alimentos que supra as necessidades desse quantitativo é um desafio. Diante de todos os fatores que reduzem a produção de alimentos, as doenças fúngicas são de grande impacto na agricultura, pois seu caráter destrutivo afeta toda a produção.

Dentre os fitopatógenos de interesse na agricultura destacam-se os fungos *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae*. A espécie *F. pallidoroseum* existe como saprófita, podendo atuar como patógeno causando deterioração de plantas, podridão de raízes, frutos pós-colheita ou deterioração de folhas em grandes variedades de plantas, e fazer parte de um complexo de doenças, quando está presente juntamente com outros fungos e fitonematóides (Terao et al., 2009). Já O fungo *F. solani* causador de doenças em diversas culturas como batata, mandioca e inhame (podridão de tubérculos), ervilha (apodrecimento do caule), soja (síndrome da morte súbita) e feijão (podridão radicular seca) (Cruz et al., 2015; Sameza et al., 2016). Outro fitopatógeno importante na agricultura é o *C. musae*, agente causador da antracnose em bananeira, o qual prejudica a comercialização e o consumo in natura, podendo ocasionar danos de até 40% da produção (Pessoa et al., 2007; Rozwalka et al., 2010).

O controle atual desses fungos tem sido feito com a utilização massiva de fungicidas, algumas vezes sem registro para a cultura, em virtude de haver poucos produtos registrados para tal cultura, acarretando a contaminação química dos produtos, com o risco de serem rejeitados pelos importadores, bem como causando o aparecimento de raças resistentes a estes fitopatógenos. Portanto, a redução ou eliminação de agrotóxicos no controle das doenças é hoje um imperativo econômico e não mais uma opção (Terao et al., 2009).

Nesse contexto, para manter a sustentabilidade e a viabilidade econômica da cultura, é fundamental que se invista em estratégias de controle alternativo, utilizando de maneira integrada tecnologias “limpas”, buscando reduzir, ou mesmo eliminar riscos de contaminação química, garantindo a qualidade do produto, preservando a saúde da população, assegurando assim a sua competitividade (Terao et al., 2009).

Dentre as plantas com grande potencial antifúngico encontra-se a espécie *Myrcia lundiana*, pertencente à família Myrtaceae. É um arbusto, que produz óleo essencial com altos teores de 1,8-cineol, isopulegol, neral, geranial e ácido nerólico (Alves et al., 2016). Já foi comprovada a atividade do óleo essencial desta espécie sobre o fungo *Lasiodiplodia theobromae*. Porém há poucos estudos a respeito da ação do óleo essencial desta planta sobre outros fungos fitopatógenos que causam prejuízos na agricultura. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade do óleo essencial de quimiotipos de *M. lundiana* e dos seus compostos majoritários 1,8-cineol, citral e isopulegol sobre os fungos fitopatogênicos *F. pallidoroseum*, *F. solani* e *C. musae*.

2. Material e Métodos

2.1. Material vegetal e método de extração

Os óleos essenciais dos quimiotipos MLU-005, MLU-019 e MLU-022 foram caracterizados por Alves et al. 2016. As folhas foram coletadas no município de Areia Branca, Estado de Sergipe, no Nordeste do Brasil. As plantas foram desfolhadas manualmente e secas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C por cinco dias. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado, utilizando 50 g de folha seca por 140 minutos (Ehlert et al., 2006). Os óleos essenciais foram coletados e armazenados em frascos âmbar, à -20 °C até análise da composição química. Os compostos 1,8-cineol, isopulegol e citral foram adquiridos comercialmente da empresa Sigma-Aldrich.

2.2. Análises cromatográficas

A análise da composição química dos óleos essenciais foi realizada 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 m 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 impacto de 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, 2007). Para o índice de retenção foi utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (1963) em relação a uma série homóloga de n-alcenos (nC9- nC33). 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 90%.

2.3. Atividade antifúngica

Foram utilizadas culturas puras dos fungos *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae*, fornecidos pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Sergipe. A atividade antifúngica dos óleos essenciais foi avaliada contra o fungo em ensaio por contato com base na inibição do crescimento micelial (Chang et al., 2008). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições. Os óleos essenciais e os compostos majoritários foram homogeneizados em DMSO (Dimetilsulfóxido) a 1% e misturados ao meio de cultura ABD (Agar Batata Dextrose, HIMEDIA). Foram testadas concentrações a partir de 0,1 mL/L de óleo essencial até encontrar o efeito fungicida para cada quimiotipo. Os compostos majoritários de cada quimiotipo foram testados de acordo com suas proporções dentro do óleo essencial, até encontrar o efeito fungicida.

As soluções foram vertidas em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro e cada placa foi inoculada, no centro, com um disco de 7 mm de diâmetro da cultura do fungo e incubadas em câmara B.O.D à temperatura de 22 ± 3 °C com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada por medições do diâmetro micelial (média de duas medidas

diametralmente opostas), utilizando-se um paquímetro, 96 horas após a incubação. Foram usadas como controle, placas de Petri contendo apenas ABD. Ao final das avaliações, calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento do fungo (PIC) dos tratamentos em relação ao controle utilizando-se a fórmula: $PIC = [(diâmetro\ do\ controle - diâmetro\ do\ tratamento) / diâmetro\ do\ controle] \times 100$.

Para avaliar o perfil fungistático e fungicida dos óleos essenciais e compostos majoritários, realizou-se a transferência dos discos miceliais, dos tratamentos que não apresentaram crescimento visível, para novas placas de Petri contendo somente o meio de cultura ABD, realizou-se a avaliação até as 96 h. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi considerada a menor concentração na qual não houve crescimento do fungo após a transferência. A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi considerada a menor concentração em que não foi observado o crescimento micelial, após a transferência.

2.4. Análises estatísticas

As médias da porcentagem de inibição do crescimento micelial com os respectivos desvios padrão das médias foram obtidos com o programa Graph Pad Prism® (média \pm DPM).

3. Resultados e discussão

A análise química do óleo essencial de três quimiotipos de *M. lundiana* foi caracterizada pela presença de terpenos (Tabela 1). O quimiotipo MLU-005 apresentou 1,8-cineol (25,93%), ácido nerólico (24,44%), β -pineno (11,39%) e α -terpineol (7,13%) como compostos majoritários, para o quimiotipo MLU-019 seus compostos majoritários foram isopulegol (41,06%), ácido nerólico (20,09%), neo-isopulegol (15,26%) e 1,8-cineol (14,46%). O quimiotipo MLU-022 apresentou o citral (neral + geranial) (55,59% = 24,25% (neral) + 31,34% (geranial)), o 1,8-cineol (11,89%), β -pineno (9,93%) e α -pineno (5,00%).

Todos os quimiotipos do óleo essencial de *M. lundiana* apresentaram atividade antifúngica sobre os fungos *F. pallidoroseum*, *F. solani* e *C. musae*, destacando-se os quimiotipos representados pelos compostos majoritários isopulegol e citral (Tabela 2 e 3). Os fungos *Fusarium pallidoroseum* e *Fusarium solani* apresentaram crescimento micelial semelhante para os óleos essenciais MLU-005 e MLU-019 até as primeiras 48

horas, o mesmo acontecendo para os compostos majoritários isopulegol e citral (Figuras 1 e 2). O fungo *Colletotrichum musae* apresentou crescimento total em seu controle em 48 horas de avaliação, divergindo dos demais fungos testados (Figura 3).

O óleo essencial do quimiotipo MLU-005 com alto teor de 1,8-cineol (25,93%) na sua composição química, proporcionou 100% de inibição do crescimento micelial a partir da concentração 1,1 mL/L (Concentração Inibitória Mínima – CIM) para o fungo *F. pallidoroseum* e 7,0 mL/L para o fungo *F. solani*. Observou-se melhor atividade do óleo essencial MLU-005 para o fungo *C. musae*, com CIM de 0,2 mL/L, proporcionando melhor concentração fungicida mínima (CFM) de 0,3 mL/L (Tabela 2). O óleo essencial MLU-005 apresentou atividade antifúngica pronunciada, já o 1,8-cineol, um de seus compostos majoritários apresentou atividade antifúngica moderada (Tabelas 2 e 3).

O composto 1,8-cineol foi o mais abundante no óleo essencial MLU-005 testado neste trabalho, por essa razão esperava-se que este composto fosse o responsável pela ação antifúngica do óleo essencial (Tabela 1). Entretanto, observando a tabela 3, pode-se concluir que a eficiência do óleo essencial não está diretamente ligada à presença do composto 1,8-cineol. Provavelmente outro composto presente no óleo essencial ou a junção de alguns compostos é responsável pelo controle micelial ou então é o efeito sinérgico. A interação sinérgica dos seus constituintes e a existência de compostos minoritários com marcada atividade antifúngica, são hipóteses prováveis para justificar o fato da atividade antifúngica do óleo essencial MLU-005 ser superior à do seu composto majoritário (Koroch et al., 2007; Bossole & Juliani, 2012)

Resultados semelhantes foram observados ao avaliar a atividade fungitóxica sobre a inibição micelial dos fitopatógenos *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* ao testar o 1,8-cineol (Gonçalves et al., 2015). Por outro lado, este composto foi ativo no controle do *S. rolfsii* em ensaios *in vivo* (Derbalah et al., 2012). No entanto, tais autores não avaliaram o efeito do composto puro.

O óleo essencial MLU-019 e seu composto majoritário, isopulegol, apresentou a mesma CIM (1,1 mL/L) frente ao fungo *F. pallidoroseum* (Tabelas 2 e 3). Com isso é possível afirmar que o composto isopulegol isoladamente apresenta capacidade fungicida para o fungo testado, o mesmo não acontecendo com os demais fungos, principalmente para o fungo *C. musae* que apresentou mais sensibilidade ao óleo essencial MLU-019 com CFM (0,8 mL/L) que ao seu isolado com CFM de (1,1mL/L)

(Tabela 2). O isopulegol, é um monoterpeneo álcool, presente no óleo essencial de diversas espécies. Sua ação inibitória pode estar associada ao seu caráter lipofílico. O caráter lipofílico proporciona uma maior afinidade por fases orgânicas, como as membranas biológicas, sendo mais facilmente dispersável de forma completa em meios orgânicos. Dessa forma é possível desencadear efeitos tóxicos na estrutura e na função das membranas das células dos organismos, como alterações na fluidez e permeabilidade e interação com componentes internos da célula (Trombeta et al., 2005; Coelho & Santos, 2007).

O óleo essencial MLU-022, apresentou CIM igual ao isolado citral frente ao fungo *F. solani* (0,5 mL/L) (tabela 2), o fungo *F. pallidoroseum* apresentou CIM mais baixo para o óleo essencial (0,2 mL/L), ou seja, a permeabilidade da parede celular desse fungo é mais sensível a mistura dos compostos do óleo essencial. Já para o fungo *C. musae* o CIM foi mais baixo para o composto isolado citral (0,2 mL/L) (Tabela 3). O Citral (3,7-dimetil-2,6-octadienal) é uma mistura de dois aldeídos monoterpênicos acíclicos isoméricos: geranial (E-citral) e neral (Z-citral) (Coelho & Santos, 2007). O citral é um agente antimicrobiano, com atividade antifúngica sobre *Penicillium digitatum*, causador de doenças pós-colheita em citrus, onde o citral modificou a morfologia mitocondrial e a função da parede celular desse fitopatógeno, causando uma diminuição do nível de oxigênio e da frequência respiratória, levando a um aumento da permeabilidade da membrana fúngica pela ação deste fitoquímico sobre a parede celular (Rozwalka et al., 2010; Fan et al., 2014).

Para os fungos *F. pallidoroseum* e *F. solani*, o óleo essencial mais promissor foi o MLU-022, para o fungo *C. musae* foi o MLU-005. Já para os compostos majoritários o citral foi o mais promissor para os três fungos testados. Sugere-se que o mecanismo de ação das amostras testadas sobre os fungos fitopatogênicos atuou sobre os princípios do sinergismo e antagonismo (Tian et al., 2012). Observou-se que o óleo essencial ou seu composto majoritário puro apresentaram sensibilidade diferente em ambos os fungos testados, onde o *C. musae* foi mais sensível que o *F. solani*. Estudos sobre o mecanismo dos óleos essenciais fúngica indicam que essa atividade também pode ser atribuída à presença dos compostos fenólicos e terpenóides que compõem sua estrutura (Khan et al., 2011). Supõe-se ainda que tal efeito sobre as paredes celulares dos fungos pode estar associado à oxidação de lipídeos da membrana celular induzida por alguns dos constituintes do óleo (Gilles et al., 2010).

Em uma revisão das propriedades antimicrobianas de óleos essenciais, os óleos essenciais destacaram devido a sua característica lipofílica, os óleos passam pela parede celular e membrana plasmática, podendo afetar suas estruturas (Montanari et al., 2012). Essa propriedade citotóxica dos óleos essenciais é muito importante na aplicação desses extratos vegetais na agricultura, uma vez que podem ser eficazes no controle de fitopatógenos. Compostos avaliados em sua forma pura, mostram ação antimicrobiana em diferentes estudos (Bakkali et al., 2008; Regnier et al., 2008; Dan et al., 2010; Hussain et al., 2010; Combrinck et al., 2011). Ressalta-se também a importância da hidrofobicidade dos óleos essenciais e de seus constituintes, visto que são capazes de interagir com a camada lipídica das membranas celulares, causando alterações em suas estruturas e as tornando menos seletivas, podendo ocasionar o extravasamento de íons e outros constituintes celulares (Kumar et al., 2008).

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que os óleos essenciais e seus compostos majoritários demonstraram atividade antifúngica, com eficácia sobre os fungos *F. pallidroseum*, *F. solani* e *C. musae*, com exceção do MLU-005, onde o seu óleo essencial foi mais ativo que o composto majoritário o 1,8-cineol e que sua atividade pode estar relacionada com diferentes combinações dos teores de seus compostos majoritários. Ressalta-se que o mesmo óleo essencial, com mesma concentração, apresenta fungitoxicidade diferente entre patógenos. Os óleos essenciais de *Myrcia lundiana* e seus compostos majoritários apresentaram grande potencial para o controle dos fungos avaliados, uma vez que doses pequenas reduziram significativamente o crescimento micelial desses patógenos, podendo ser usado como uma opção de controle em cultivos orgânicos ou em sistemas de manejo integrado.

4. Conclusões

Os óleos essenciais de *Myrcia lundiana* apresentaram grande potencial para o controle dos fungos avaliados, com CIM e CFM variando de 0,2 a 8,0 mL/L para os três fungos testados. Seus compostos majoritários isopulegol e citral apresentaram valores de CIM variando 0,2 a 1,1 mL/L e CFM variando de 0,3 a 1,2 mL/L para os fungos avaliados. Podendo ser usado como uma opção de controle em cultivos orgânicos ou em sistemas de manejo integrado.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, FAPITEC/SE, CAPES, FINEP e RENORBIO pelo suporte financeiro dado para realização deste trabalho.

Referências

- Alves, M.F., Nizio, D.A.C., Sampaio, T.S., Nascimento Junior, A.F., Brito, F.A., Melo, J.O., Arrigoni-Blank, M.F., Gagliardi, P.R., Machado, S.M.F., Blank, A.F. (2016). *Myrcia lundiana* Kiaersk native populations have different essential oil composition and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. *Industrial Crops and Products*, 85, 266-273.
- Adams, R.P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, 4th ed., Allured: Carol Stream.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- Bassolé, I. H. N.; Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989-4006.
- Carrer, H., Barbosa, A.L., Ramiro, D.A. (2010). Biotecnologia na agricultura. *Estudos Avançados*, 24(70), 149-164.
- Chang, H.T.; Cheng, Y.H.; Wu, C.L.; Chang, S.T.; Chang, T.T.; Su, Y.C. (2008). Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana florin* leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresource Technology*, 99(14), 6266-6270.
- Coelho, A.C.V., Santos, P. S. (2007). Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão. *Química Nova*, 30(5), 1282-1294.
- Combrinck, S., Regnier, T., Kamatou, G.P.P. (2011). In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 344-349.
- Cruz, T.P.; Alves, F.R.; Mendonça, R.F.; Costa, A.V.; Jesus Junior, W.C.; Pinheiro, P.F.; Marins, A.K. (2015). Atividade fungicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* JOWIT (citronela) contra *Fusarium solani*. *Bioscience Journal*, 31(1), 1-8.
- Dan, Y., Liu, H.Y., Gao, W.W., Chen, S.L. (2010). Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* against five phytopathogens. *Crop Protection*, 29(3), 295-299.

- Derbalah, A.S.; Dewir, Y.H.; El-Sayed, A.EN.B. (2012). Antifungal activity of some plant extracts against sugar beet damping-off caused by *Sclerotium rolfsii*. *Annals of Microbiology*, 62(3), 1021-1029.
- Ehlert, P.A.D., Blank, A.F., Arriogoni-Blank, M.F., Paula, J.W.A., Campos, D.A., Alviano, C.S. (2006). Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 8(2), 79-80.
- Fan, F.; Tao, N.; Jia, L.; He, X. (2014). Use of citral incorporated in postharvest wax of citrus fruit as a botanical fungicide against *Penicillium digitatum*. *Postharvest Biology Technology*, 90, 52-55.
- Gilles, M., Zhao, J., An, M., Agboola, S. (2010). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. *Food Chemistry*, 119(2), 731-737.
- Gonçalves, A.H.; Pereira, A.S.; Santos, G.R.S.; Guimarães, L.G.L. (2015). Atividade fungitóxica *in vitro* dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham., *Cymbopogon citratus*(D.C.) Stapf. e de seus constituintes majoritários no controle de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17(4), 1007-1015.
- Hussain, A., Anwar, F., Nigam, P.S., Ashraf, M., Gilani, A.H. (2010). Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(11), 1827-1836.
- Khan, M.S.A.; Ahmad, I. (2011). Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Journal Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(3), 1083-1094.
- Koroch, A. R., Juliani, H. R., Zygadlo, J. A. (2007). Bioactivity of essential oils and their components. In *Flavours and fragrances*, Springer Berlin Heidelberg, 87-115.
- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C.S., Dubey, N.K. (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(4), 575-580.

- Montanari, R.M., Barbosa, L.C.A., Demuner, A.J., Silva, C.J., Andrades, N.J., Ismail, F.M.D., Barbosa, M.C.A. (2012). Exposure to Anacardiaceae volatile oils and their constituents induces lipid peroxidation within food-borne bacteria cells. *Molecules*, 16(8), 9728-9740.
- Pessoa, W.R.L.S., Oliveira, S.M.A., Dantas, S.A.F., Tavares, S.C.C. DE H., Santos, A.M.G. (2007). Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 33(2), 147-151.
- Regnier, T.; Plooy, W.; Combrinck, S.; Botha, B. (2008). Fungitoxicity of *Lippia scaberrima* essential oil and selected terpenoid components on two mango postharvest spoilage pathogens. *Postharvest Biology Technology*, 48(2), 254-258.
- Rozwalka, L. C.; Alves, E.; Amaral, D. C. (2010). Ultrastructural study of conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum musae* treated with essential oils. *Interciencia*, 35(12), 912-915.
- Sameza, M.L.; Mabou, L.C.N.; Tchameni, S.N.; Bedine, M.A.B.; Tchoumboungang, F.; Dongmo, P.M.J.; Fekam, F.B.J. (2016). Evaluation of Clove Essential Oil as a Mycobiocide Against *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium solani*, Tuber Rot Causing Fungi in Yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). *Phytopathology*, 164(7), 433-440.
- Terao, D.; Oliveira, S.M.A.; Viana, F.M.P.; Sá, C.R.L.; Moura, R.D.; Gondim, D.M.F. (2009). Manejo da podridão de melão pelo controle do amadurecimento através do 1-mcp, sob duas condições de armazenamento. *Summa Phytopathology*, 26(2), 110-115.
- Tian, J.; Ban, X.; Zeng, H.; He, J.; Chen, Y.; Wang, Y. (2012). The mechanism of antifungal action of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*. *Plos One*, 7(1), e30147.
- Trombeta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C.S.I.J., Mazzanti, G., Bisignano, G. (2005). Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(6), 2474-2478.
- Van Den Dool, H.; Kratz, P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal Chromatography A*, 11, 463-471.

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais dos três quimiotipos de *M. lundiana* de acordo com Alves et al. (2016).

Compostos	IRR1	MLU-005	MLU-019	MLU-022
α -pineno	932	5,64	0,92	5,00
β -pineno	974	11,39	0,67	9,93
<i>p</i> -cymeno	1020	1,54	0,94	1,86
1,8-cineol	1026	25,93	14,46	11,89
linalol	1095	1,46	2,54	1,33
neo isopulegol	1143	0,26	-	-
isopulegol	1145	-	41,06	-
citronelal	1148	-	-	-
iso-isopulegol	1155	-	15,26	-
neo iso-isopulegol	1174	-	2,11	-
terpinen-4-ol	1174	4,42	2,07	1,66
α -terpineol	1186	7,13	3,15	3,16
citronelol	1223	-	3,17	-
neral	1235	0,23	-	24,25
geranial	1249	0,34	-	31,34
metil nerolato	1280	2,61	0,20	-
metil<8-hydroxy-neo>	1339	-	1,24	-
Ácido nerólico	1347*	24,44	20,09	-
<i>E</i> -cariofileno	1417	1,11	2,53	-
<i>trans</i> - α -bergamoteno	1436	-	0,31	-
β -selineno	1489	1,53	-	0,34
α -selineno	1498	1,13	-	2,16
óxido de cariofileno	1582	4,56	3,13	0,36
<i>Z</i> - α - <i>trans</i> -bergamotol	1713	-	0,42	-

IRR1: Índice de retenção relativo - literatura (Adams, 2007). * Watanabe et al. (2005).

Tabela 2. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (média \pm erro padrão da média) dos fungos fitopatogênicos *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae* em função de concentrações dos óleos essenciais dos três quimiotipos de *M. lundiana*, após 96 horas de incubação.

Concentração de óleo essencial (mL/L)	Inibição do crescimento micelial (%) de fungos fitopatogênicos		
	<i>F. pallidoroseum</i>	<i>F. solani</i>	<i>C. musae</i>
Planta MLU-005 (quimiotipo 1,8-cineol)			
0,1	39,55 \pm 0,73	18,80 \pm 0,52	61,26 \pm 0,98
0,3	---	---	89,58 \pm 0,79
0,4	---	---	100,0 \pm 0,00*
0,5	---	---	100,0 \pm 0,00**
1,0	87,14 \pm 0,55	43,61 \pm 1,22	---
1,1	100,0 \pm 0,00*	---	---
1,2	100,0 \pm 0,00**	---	---
6,0	---	83,33 \pm 2,06	---
7,0	---	100,0 \pm 0,00*	---
8,0	---	100,0 \pm 0,00**	---
Planta MLU-019 (quimiotipo isopulegol)			
0,1	29,55 \pm 1,11	18,65 \pm 0,73	25,44 \pm 3,25
0,5	57,25 \pm 0,74	32,67 \pm 2,16	---
0,6	---	---	83,33 \pm 2,07
0,7	---	---	100,0 \pm 0,00*
0,8	---	---	100,0 \pm 0,00**
1,0	87,26 \pm 0,73	45,25 \pm 2,64	---
1,1	100,0 \pm 0,00*	---	---
1,2	100,0 \pm 0,00**	---	---
4,0	---	95,67 \pm 2,63	---
5,0	---	100,0 \pm 0,00*	---
6,0	---	100,0 \pm 0,00**	---
Planta MLU-022 (quimiotipo citral)			
0,1	87,14 \pm 0,55	16,55 \pm 4,50	27,98 \pm 10,87
0,2	100,0 \pm 0,00*	---	---
0,3	100,0 \pm 0,00**	---	---
0,4	---	83,33 \pm 2,06	83,43 \pm 2,06
0,5	---	100,0 \pm 0,00*	100,0 \pm 0,00*
0,6	---	100,0 \pm 0,00**	100,0 \pm 0,00**

* Atividade fungistática; ** atividade fungicida,

Tabela 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (média \pm erro padrão da média) dos fungos fitopatogênicos *Fusarium pallidoroseum*, *Fusarium solani* e *Colletotrichum musae* em função de concentrações dos compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral, após 96 horas de incubação.

Concentração de composto majoritário (mL/L)	Equivalência em óleo essencial (mL/L)	Inibição do crescimento micelial (%) de fungos fitopatogênicos		
		<i>F. pallidoroseum</i>	<i>F. solani</i>	<i>C. musae</i>
1,8-cineol		MLU-005		
0,0259	0,1	63,97 \pm 2,01	27,29 \pm 2,16	27,88 \pm 2,14
0,1297	0,5	66,86 \pm 7,25	29,47 \pm 7,37	30,04 \pm 7,31
0,2593	1,0	69,75 \pm 4,02	40,36 \pm 3,56	35,44 \pm 5,69
1,2965	5,0	71,36 \pm 8,21	43,35 \pm 2,36	40,84 \pm 3,53
2,5930	10,0	74,26 \pm 3,90	52,37 \pm 5,74	43,81 \pm 2,34
Isopulegol		MLU-019		
0,0411	0,1	61,70 \pm 0,70	62,15 \pm 4,50	15,13 \pm 2,41
0,3695	0,9	---	---	75,49 \pm 1,63
0,4106	1,0	83,52 \pm 3,29	84,20 \pm 1,25	100,0 \pm 0,00*
	1,1	100,0 \pm 0,00*	100,0 \pm 0,00*	100,0 \pm 0,00**
0,4517				
	1,2	100,0 \pm 0,00**	100,0 \pm 0,00**	---
0,4927				
Citral		MLU-022		
0,0556	0,1	68,80 \pm 0,80	54,52 \pm 3,40	81,09 \pm 2,47
0,1112	0,2	---	---	100,0 \pm 0,00*
	0,3	---	---	100,0 \pm 0,00**
0,1668				
0,2224	0,4	---	83,52 \pm 3,29	---
0,2780	0,5	85,52 \pm 3,20	100,0 \pm 0,00*	---
	0,6			
0,3335		100,0 \pm 0,00*	100,0 \pm 0,00**	---
0,3891	0,7	100,0 \pm 0,00**	---	---

* Atividade fungistática; ** atividade fungicida,

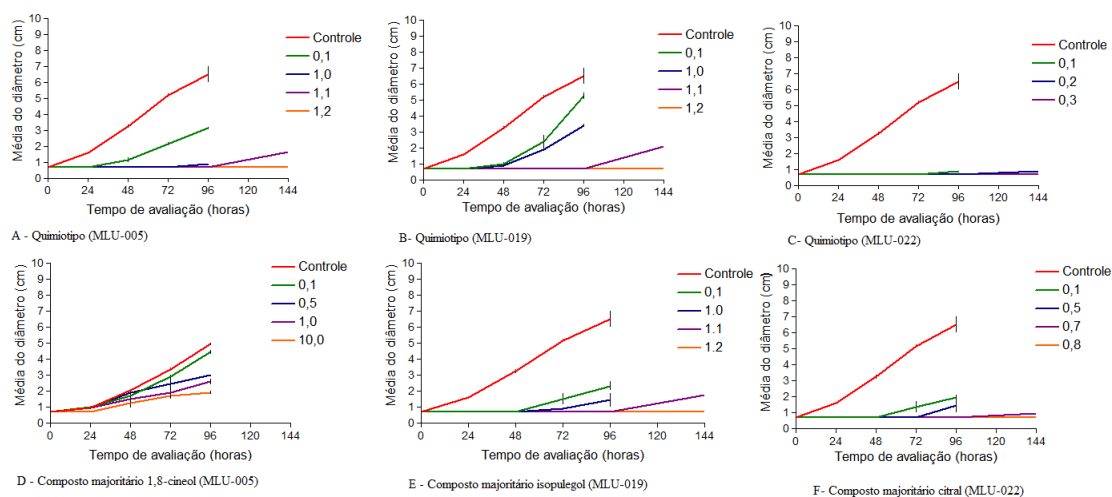


Figura 1 Crescimento do diâmetro micelial em função do tempo, para os óleos essenciais MLU-005, MLU-019, MLU-022 e seus compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral durante 144 dias de avaliação para o fungo *Fusarium pallidoroseum*.

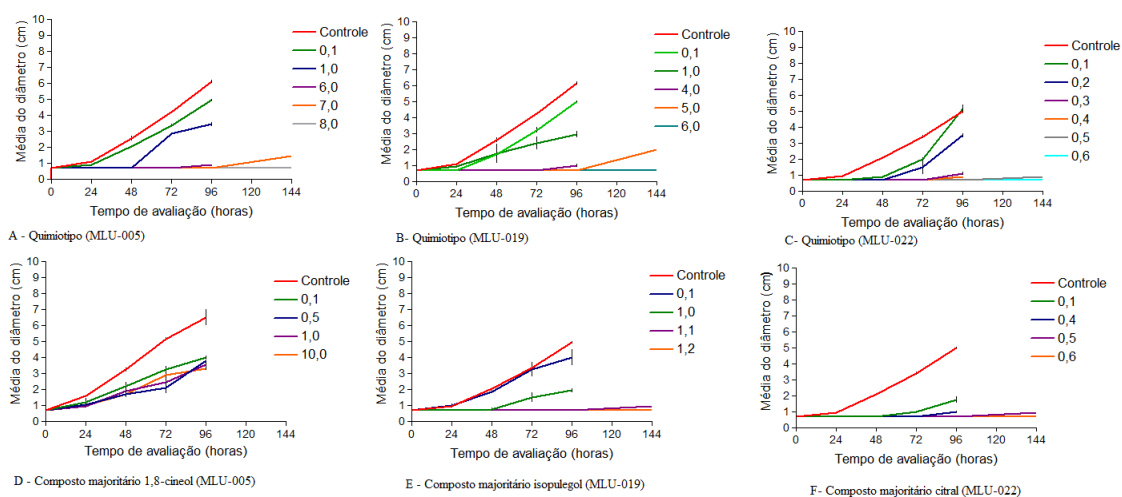


Figura 2. Crescimento do diâmetro micelial em função do tempo, para os óleos essenciais MLU-005, MLU-019, MLU-022 e seus compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral durante 144 dias de avaliação para o fungo *Fusarium solani*.

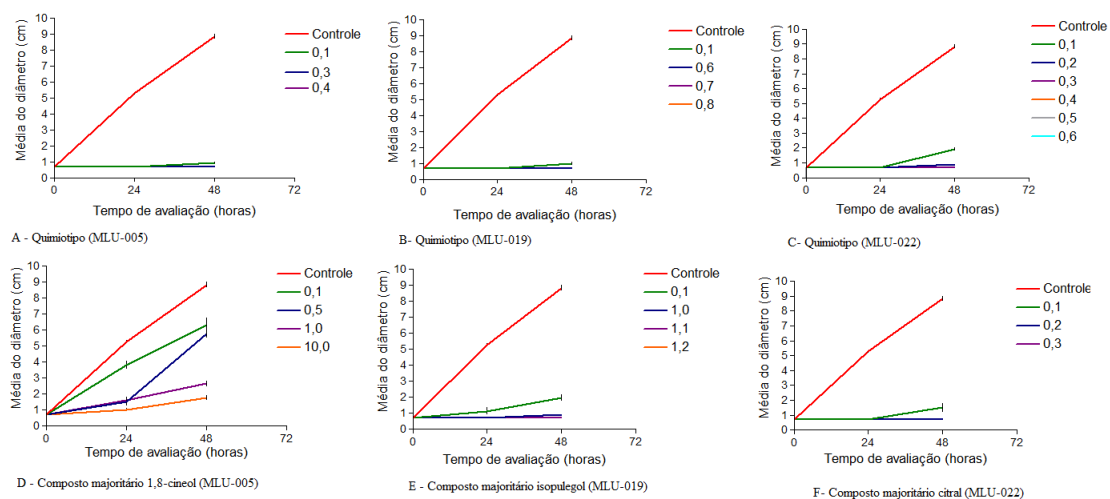


Figura 3. Crescimento do diâmetro micelial em função do tempo, para os óleos essenciais MLU-005, MLU-019, MLU-022 e seus compostos majoritários 1,8-cineol, isopulegol e citral durante 144 dias de avaliação para o fungo *Colletotrichum musae*.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Os óleos essenciais das plantas nativas de *M. lundiana* do Estado de Sergipe, devido à ampla diversidade química apresentada, poderão futuramente ser utilizados na obtenção de bioprodutos para serem utilizados tanto na agropecuária quanto na área medicinal. As plantas poderão também ser conservadas em bancos de germoplasma para serem utilizadas em programas de melhoramento genético da espécie.

A diversidade genética das plantas de *M. lundiana* do "Parque Nacional de Itabaiana", no estado de Sergipe, Brasil, é intermediária. Os resultados encontrados neste estudo são importantes para a conservação desta espécie, e aponta para a necessidade de aumentar o número de plantas para o estudo da diversidade genética do "Parque Nacional de Itabaiana".

O óleo essencial das plantas de *M. lundiana* do Estado de Sergipe, apresentaram atividade fungicida contra *L. theobromae*, *F. pallidoroseum*, *F. solani* e *C. musae*. Os resultados são promissores para o desenvolvimento de formulações que viabilizem sua utilização na agropecuária como uma alternativa mais segura, minimizando assim, os impactos da utilização indiscriminada de produtos sintéticos.

ANEXOS

PATENTE



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102013020960-0 A2

(22) Data do Depósito: 16/08/2013

(43) Data da Publicação: 08/03/2016

(RPI 2357)



4 BR 102013020960A

(54) Título: PRODUTO FUNGICIDA, MÉTODO PARA ELIMINAR O FITOPATÓGENO LASIODIPLDIA THEOBROMAE COM USO DE ÓLEO ESSENCIAL DE MYRCIA LUNDIANA

(51) Int. Cl.: A01N 65/28 ; A01P 3/00

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

(72) Inventor(es): ARIE FITZGERALD BLANK, MÉRCIA FREITAS ALVES, JULIANA OLIVEIRA DE MELO, MAGNA GALVÃO PEIXOTO, ALYNE DANTAS LIMA, MARIA DE FÁTIMA ARRIGONI-BLANK, SAMÍSIA MARIA FERNANDES MACHADO, ROGÉRIA DE SOUZA NUNES, PAULO ROBERTO GAGLIARDI, IARA LISBOA DE MATOS, ALBERTO FERREIRA DO NASCIMENTO JUNIOR, MARCELINO DE SOUZA SANTOS

(57) Resumo: PRODUTO FUNGICIDA, MÉTODO PARA ELIMINAR O FITOPATÓGENO Lasiodiplodia theobromae COM USO DE ÓLEO ESSENCIAL DE Myrcia lundiana. A presente invenção refere-se a uma composição fungicida, à base de óleo essencial Myrcia Lundiana, especificamente para aplicação superficial constituída por casca e pedúnculo que se deseja eliminar fitopatógenos. O óleo essencial de Myrcia lundiana em diversas concentrações mostra-se eficiente como antifúngico contra Lasiodiplodia theobromae eliminando completamente a cultura fúngica e suas estruturas proliferativas quando a concentração é fungicida, se inibindo 100% o crescimento micelial quando a concentração é fungistática.