

## CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E QUÍMICA DE ACESSOS DE ERVA-BALEEIRA DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS DA UFS

Luís Ferando de A. Nascimento<sup>1\*</sup>, Bruna Maria Santos de Oliveira<sup>2</sup>, José Carlos F. de Sá Filho<sup>1</sup>, Daniela Aparecida de Castro Nizio<sup>3</sup>, Arie F. Blank<sup>4</sup>

1. Estudante de IC do Curso de Engenharia agrônômica da UFS
2. Aluna de doutorado em Agricultura e Biodiversidade do PPGAGRI/UFS
3. Pós-doutoranda Dra. do PPG em Agricultura e Biodiversidade da UFS
4. Professor Dr. do Departamento de Engenharia Agrônômica da UFS / Orientador

### Resumo:

O objetivo do trabalho foi caracterizar agronomicamente e quimicamente os acessos de erva-baleeira do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Universidade Federal de Sergipe. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições, cada parcela foi constituída por uma planta. A caracterização agrônômica foi realizada a partir do rendimento de massa seca de parte aérea (g), teor (%) e rendimento do óleo essencial (mL/planta). A análise química do óleo essencial foi realizada através de CG/EM/DIC. O acesso VCUR-105, apresentou maior teor de óleo essencial (3,20 %). Cinco acessos apresentaram rendimento superior a 9 mL/planta. Oito acessos apresentaram média superior de massa seca (582,66 g). Os compostos mais abundantes foram 7-ciclododecen-1-ona, 7-metil-3-metileno-10-(1-propil),  $\alpha$ -turmerona, E-cariofileno, shyobunol, germacreno D-4ol, viridiflorol,  $\alpha$ -zingibereno, sabineno, biciclogermacreno e  $\alpha$ -pineno; os quais permitiram classificar os acessos em 7 grupos químicos distintos.

**Palavras-chave:** Descritores; Óleos Essenciais; *Varronia curassavica*.

**Apoio financeiro:** CNPq, FAPITEC/SE, CAPES, FUNTEC.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UFS.

### Introdução:

O Brasil é o país com maior representatividade em biodiversidade e número de espécies endêmicas vegetais (BEECH et al., 2017). A espécie *Varronia curassavica* (Cordiaceae), popularmente conhecida como erva-baleeira é originária do Brasil e pode ser encontrada em vários tipos de habitats, tais como: praias, restingas, florestas e cerrados (WANDERLEY et al., 2012).

A erva-baleeira apresenta diversas atividades biológicas comprovadas. Além da ação anti-inflamatória e analgésica apresentada pelo óleo essencial (SERTIÉ et al., 2005), outras atividades foram relatadas como antiulcerogênica (ROLDÃO et al., 2008), antifúngica (RODRIGUES et al., 2012), toxicidade contra a larva do mosquito *Aedes aegypti* (SANTOS et al., 2006), podendo assim se tornar uma alternativa importante no controle de doenças causadas pelo vírus da dengue e chikungunya. Em estudos desenvolvidos pela Universidade Federal de Sergipe (UFS), a atividade antiprotozoária sobre *Ichthyophthirius multifiliis* e atividade fungistática sobre *Lasiodiplodia theobromae* (NIZIO et al., 2015; NIZIO et al., 2017) também foram constatadas.

Uma alternativa para manutenção e conservação das espécies de plantas é a criação de Bancos Ativos de Germoplasma (BAG's), onde o material genético é mantido fora do local de origem ("ex situ"), sendo conservados através de órgãos reprodutivos ou plantas inteiras. A conservação desses recursos genéticos é de suma importância pois permite que a variabilidade genética de espécies úteis ou potencialmente úteis sejam conservadas para uso presente ou futuro. O ideal é que esses BAG's tenham um quantitativo de amostras ou acessos que possam representar a ampla variabilidade genética da espécie, (BRUNO et al., 2017). Além de realizar a conservação e manutenção, é necessário que os acessos mantidos em um BAG sejam caracterizados. A caracterização do germoplasma de plantas medicinais permite que estudos sejam conduzidos visando a elucidação e exploração de suas potencialidades, podendo em seguida, servir de matéria-prima para fabricação de produtos como inseticidas botânicos e fármacos (TAVARES; VENDRAMIM, 2005), além de disponibilizar informações que possibilitem o melhoramento genético e a utilização sustentável da espécie.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar agronomicamente e quimicamente os acessos de erva-baleeira mantidos no BAG de Plantas Medicinais e Aromáticas da UFS.

### Metodologia:

O BAG de *V. curassavica* foi implantado, no ano de 2012, no Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas da Fazenda Experimental "Campus Rural da UFS", latitude 11° 00' S e longitude 37° 12' O. O presente trabalho foi realizado em junho de 2015. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três repetições. Cada parcela foi constituída por uma planta. Foram caracterizados 27 acessos provenientes de diferentes localidades nos Estados de Sergipe, São Paulo e por intercâmbio entre instituições.

A caracterização agrônômica foi realizada com base nas seguintes variáveis: massa seca das folhas (g), teor (%) e rendimento (mL/planta) do óleo essencial. Para isso, folhas coletadas de plantas dos 27 acessos foram armazenadas em sacos de papel e colocadas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C  $\pm$  1 °C por cinco dias para secagem. Após esse período, as amostras foram pesadas em balança digital para obtenção da

massa seca (g). Em seguida o óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado por 140 minutos, acoplado a um balão de fundo redondo de 3000 mL. Foram utilizadas amostras de 50 g de folhas para dois litros de água destilada (EHLERT et al., 2006). Após extração, os óleos essenciais foram estocados em frascos âmbar à -20 °C.

O teor e rendimento de óleo essencial foram calculados usando a seguinte fórmula:

- Teor (%) = [(volume de óleo essencial extraído da amostra/massa seca da amostra (50 g)] x 100.

- Rendimento (mL/planta) = (teor x massa seca total da planta).

As análises químicas dos óleos essenciais foram realizadas em Cromatógrafo a Gás acoplado a um Espectrômetro de Massas e um Detector de Ionização em Chama (CG/EM-DIC) (GC/MS-QP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), equipado com um amostrador com injeção automática AOC-20i (Shimadzu).

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 obter o índice de retenção foi utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (1963) em relação a uma série homóloga de n-alcenos ( $nC_9$ -  $nC_{18}$ ). 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%.

Os dados agrônômicos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) com o auxílio do pacote estatístico Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2011). A partir dos dados das análises dos constituintes químicos dos óleos essenciais, foi realizada uma análise de agrupamento usando o software Statística 7.0. A matriz de dissimilaridade com base nas distâncias euclidianas foi simplificada com dendogramas usando o método de agrupamento de Ward. O número de grupos foi definido a critério do pesquisador, a partir da análise do dendograma e com base nos conhecimentos prévios dos acessos de erva-baleeira.

### Resultados e Discussão:

O acesso VCUR-105 proveniente do município de Graccho Cardoso-SE, se destacou dos demais pelo maior teor de óleo essencial (3,20 %) sendo uma possível opção para utilização em programas de melhoramento, quando o objetivo for o aumento da produtividade de óleo essencial. Os acessos VCUR-002, VCUR-101, VCUR-303, VCUR-504 e VCUR-505, apresentaram maiores rendimentos de óleo essencial, com valores acima de 9 mL/planta. Para a variável rendimento de massa seca das folhas, oito acessos se destacaram, os quais produziram em média 582,66 g (Tabela 1).

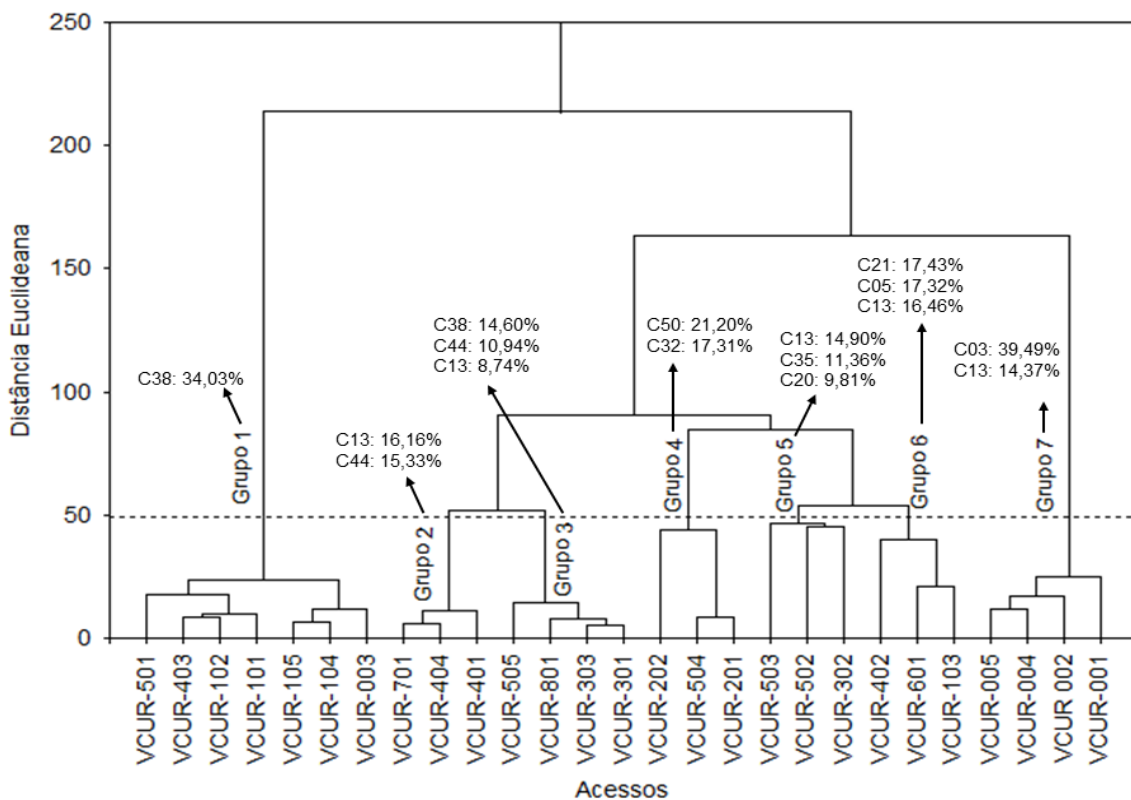
**Tabela 1.** Massa seca de folha, teor, rendimento e principais compostos presentes no óleo essencial de acessos de *Varronia curassavica*.

Acesso	Teor (%)	Rendimento (mL/planta)	Massa Seca (g)	Principais compostos (%)
VCUR-001	0,98d	4,60c	345,23b	$\alpha$ -pineno (32,16%), E-cariofileno (11,94%), $\alpha$ -santaleno (11,61%)
VCUR-002	1,45c	10,93a	755,90a	$\alpha$ -pineno (47,54%), E-cariofileno (11,70%)
VCUR-003	2,20b	2,97c	138,86b	7-ciclododecen-1-ona (38,02%)
VCUR-004	1,60c	1,22c	78,13b	$\alpha$ -pineno (42,35%), E-cariofileno (19,08%)
VCUR-005	1,52c	6,77b	164,06b	$\alpha$ -pineno (35,91%), E-cariofileno (14,76%), biciclogermacreno (10,17%)
VCUR-101	2,50b	9,43a	375,60b	7-ciclododecen-1-ona (33,25%), biciclogermacreno (7,93%)
VCUR-102	2,33b	8,87b	377,73b	7-ciclododecen-1-ona (29,99%), shyobunona (9,50%)
VCUR-103	1,17d	4,72c	400,73b	sabineno (25,99%), biciclogermacreno (16,63%), $\delta$ -elemeno (8,01%)
VCUR-104	1,78c	6,53b	384,53b	7-ciclododecen-1-ona (43,73%), shyobunona (8,92%),
VCUR-105	3,20a	6,59b	213,03b	7-ciclododecen-1-ona (38,26%), shyobunona (8,98%),
VCUR-201	1,92b	5,37c	279,46b	shyobunol (24,35%)
VCUR-202	1,89b	5,12c	271,23b	germacreno D-4-ol (37,06%), shyobunol (14,21%),
VCUR-301	1,62c	8,28b	506,43a	7-ciclododecen-1-ona (14,06%), $\alpha$ -turmerona (9,58%), E-cariofileno (9,00%)
VCUR-302	1,16d	3,12c	277,23b	$\alpha$ -zingibereno (29,43%), E-cariofileno (18,11%), $\beta$ -sesquifelandreno (14,88%)
VCUR-303	1,32d	9,19a	465,70a	7-ciclododecen-1-ona (13,65%), $\alpha$ -turmerona (10,60%), E-cariofileno (10,36%)
VCUR-401	1,30d	4,14c	354,66b	E-cariofileno (21,85%), $\alpha$ -turmerona (14,33%),
VCUR-402	0,85d	4,20c	489,86a	biciclogermacreno (26,61%), E-cariofileno (20,97%), $\beta$ -felandreno (11,33%)
VCUR-403	1,60c	3,10c	188,40b	7-ciclododecen-1-ona (30,79%),
VCUR-404	1,16d	3,22c	281,16b	$\alpha$ -turmerona (14,27%), E-cariofileno (12,92%), ar-turmerona (7,13%)
VCUR-501	2,11b	3,36c	157,43b	7-ciclododecen-1-ona (24,11%), ar-turmerona (7,76%)
VCUR-502	1,53c	8,02b	523,30a	triciclono (16,83%), germacreno B (15,42%), canfeno (14,51%)
VCUR-503	1,20d	2,69c	235,03b	viridiflorol (32,84%), E-cariofileno (13,28%), $\beta$ -felandreno (10,33%)
VCUR-504	1,52c	11,71a	800,83a	shyobunol (25,04%), germacreno-D-4-ol (8,04%), $\alpha$ -cadinol (6,84
VCUR-505	1,74c	11,29a	648,80a	7-ciclododecen-1-ona (17,20%), $\alpha$ -turmerona (13,27%)
VCUR-601	1,04d	4,91c	470,46a	sabineno (25,98%), E-cariofileno (22,35%), biciclogermacreno (9,04%)
VCUR-701	1,32d	3,42c	226,73b	$\alpha$ -turmerona (17,40%), E-cariofileno (13,70%)
VCUR-801	1,20d	1,29c	105,46b	7-ciclododecen-1-ona (13,46%), $\alpha$ -turmerona (10,28%)
CV (%)	19,44	40,26	52,39	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Scott-Knott ( $P < 0,05$  %).

De acordo com as análises químicas, cinquenta e um compostos foram identificados dentre os óleos essenciais das plantas de *V. curassavica* do BAG, dos quais, os compostos encontrados em maiores quantidades entre as plantas foram 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil) (C38),  $\alpha$ -turmerona (C44), E-cariofileno (C13), shyobunol (C50), germacreno D-4ol (C32), viridiflorol (C35),  $\alpha$ -zingibereno (C20), sabineno (C05), biciclogermacreno (C21) e  $\alpha$ -pineno (C03), e de acordo com a análise de agrupamento, permitiram classificar os acessos em 7 grupos químicos distintos (Figura 1).

A principal atividade biológica relacionada aos óleos essenciais de erva-baleeira é a ação anti-inflamatória, a qual é atribuída principalmente aos compostos  $\alpha$ -humuleno e E-cariofileno (FERNANDES et al., 2007; PASSOS et al., 2007), os quais foram detectados em 100 % das plantas amostradas, com níveis variando de 1,88% (VAC-104) a 22,36% (VAC-601) e 0,71% (VAC-104) a 5,98% (VAC-402), respectivamente. Enquanto que, a ação anti-protozoária foi identificada pela presença de outros compostos como por exemplo, germacreno-D-4 ol (Nizio et al., 2017). Portanto, a caracterização química desses acessos conservados no BAG possibilitará o desenvolvimento de programas de melhoramento visando a obtenção de cultivares com alto teor de óleo essencial e de compostos bioativos para múltiplas finalidades. Na Tabela 1 é possível observar uma relação dos principais compostos encontrados nos acessos de erva-baleeira mantidos no BAG.



**Figura 1.** Dendrograma representando a similaridade entre 27 acessos de *V. curassavica* para a composição química do óleo essencial e média dos principais compostos de cada grupo. C03:  $\alpha$ -pineno, C05: sabineno, C13: E-cariofileno, C20:  $\alpha$ -zingibereno, C21: biciclogermacreno, C32: germacreno D-4ol, C35: viridiflorol, C38: 7-ciclododecen-1-ona,7-metil-3-metileno-10-(1-propil), C44:  $\alpha$ -turmerona, C50: shyobunol.

Podemos considerar que entre os acessos de *V. curassavica* mantidos no BAG, existe uma grande diversidade química do óleo essencial, embora a caracterização genética do BAG através de marcadores moleculares ISSR, tenha demonstrado de baixa a média diversidade entre os acessos (BRITO et al. 2016). Essa diferença pode ser explicada pelo fato da composição química do óleo essencial ser influenciada por fatores ambientais. Outros estudos com o objetivo de verificar a estabilidade dessa composição química em diferentes estações do ano estão em andamento.

### Conclusões:

Existe variabilidade para características agrônômicas e químicas entre acessos de erva-baleeira do BAG de Plantas Medicinais e Aromáticas da UFS. A caracterização agrônômica e química, além de possibilitar a correta descrição dos acessos conservados, abrirá caminhos para a utilização desses recursos em programas de melhoramento visando obter altos teores de óleo essencial e de compostos bioativos.

## Referências bibliográficas

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy**. New York: Allured, 2007. 807p.
- BEECH, E.; RIVERS, M.; OLDFIELD, S.; SMITH, P. P. GlobalTreeSearch: The first complete global database of tree species and country distributions. **Journal of Sustainable Forestry**, [s.l.], v. 36, n. 5, p.454-489, 23 mar. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10549811.2017.1310049>.
- BRITO F. A.; NIZIO D. A.; SILVA A. V.; DINIZ L. E.; RABBANI A. R.; ARRIGONI-BLANK M. F.; ALVARES-CARVALHO S. V.; FIGUEIRA G. M.; MONTANARI JÚNIOR I.; BLANK A. F. Genetic diversity analysis of *Varronia curassavica* Jacq. accessions using ISSR markers. **Genetics and Molecular Research**, [s.l.], v. 15, n. 3, 2016. Genetics and Molecular Research. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15038681>
- BRUNO, L. R. G. P.; ANTONIO, R. P.; ASSIS, J. G. DE A.; MOREIRA, J. N.; LIRA I. C. DE S. A. Buffel grass morphoagronomic characterization from cenchrus germplasm active bank. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 2, p.487-495, jun. 2017.
- EHLERT, P. A. D., BLANK, A. F., ARRIOGONI-BLANK, M. F., PAULA, J. W. A., CAMPOS, D. A., ALVIANO, C. S. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 79-80, 2006.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M. DA; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (?)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, [s.l.], v. 569, n. 3, p.228-236, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.04.059>.
- NIZIO, D. A. C.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, T. S.; MELO, J. O.; SILVA, F. L. S.; GAGLIARDI, P. R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANJOS, C. S.; ALVES, P. B.; WISNIEWSKI JUNIOR, A.; BLANK, A. F. Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 76, p.437-448, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.026>.
- NIZIO, D. A. de C.; FUJIMOTO, R. Y.; MARIA, A. N.; CARNEIRO, P. C. F.; FRANÇA, C. C. S.; SOUSA, N. da C.; BRITO, F. de A.; SAMPAIO, T. S.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; BLANK, A. F. Essential oils of *Varronia curassavica* accessions have different activity against white spot disease in freshwater fish. **Parasitology Research**, [s.l.], v. 117, n. 1, p.97-105, 8 nov. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-017-5673-x>.
- PASSOS, G. F.; FERNANDES, E. S.; DA CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 110, n. 2, p.323-333, mar. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.032>.
- RODRIGUES, F. F. G., OLIVEIRA, L. G. S., RODRIGUES, F. F. G., SARAIVA, M. E., ALMEIDA, S. C. X., CABRAL, M. E. S., CAMPOS, A. R., COSTA, J. G. M. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. **Pharmacognosy Research**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.161-165, 2012. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0974-8490.99080>.
- ROLDÃO E. de F.; WITAICENIS A.; SEITO L. N.; HIRUMA-LIMA C. A.; DI STASI L. C. Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 119, n. 1, p.94-98, set. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.001>.
- SANTOS, R. P.; NUNES, E. P.; NASCIMENTO, R. F.; SANTIAGO, G. M. P.; MENEZES, G. H. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, [s.l.], v. 17, n. 5, p.1027-1030, out. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532006000500030>.
- SERTIÉ, J. A. A.; WOISKY, R. G.; WIEZEL, G.; RODRIGUES, M. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. **Phytomedicine**, [s.l.], v. 12, n. 5, p.338-344, maio 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2003.09.013>.
- TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, [s.l.], v. 34, n. 2, p.319-323, abr. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-566x2005000200021>.
- VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.
- WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, T. S.; MELHEM, A. M.; MARTINS, G. S. E. **Flora Fanerogâmica do estado de São Paulo**. 7. ed. São Paulo: Instituto de Botânica, 2012. 393 p.