

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/05/2024.

DENSIDADE DE TRICOMAS GLANDULARES,
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia* DC.)

PAULO HENRIQUE FURLAN

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do campus de Botucatu e Instituto de Biociências do campus de Rio Claro.

BOTUCATU, SP

2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

DENSIDADE DE TRICOMAS GLANDULARES,
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia* DC.)

PAULO HENRIQUE FURLAN

ORIENTADORA: PROF^a DR^a MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do campus de Botucatu e Instituto de Biociências do campus de Rio Claro.

BOTUCATU, SP

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA ANDRADE CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Furlan, Paulo Henrique.

Densidade de tricomas glandulares, composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia* DC.) / Paulo Henrique Furlan. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Marcia Ortiz Mayo Marques

Capes: 20306008

1. Plantas - Composição. 2. Cromatografia a gás.
3. Microscopia eletrônica de varredura. 4. Estações do ano. 5. Óleos essenciais.

Palavras-chave: Composição química; Cromatografia gasosa bidimensional abrangente; Microscopia eletrônica de varredura; Sazonalidade; Substâncias voláteis.

Dedicatória:

“Dedico este trabalho aos meus amados pais, Valdenir Furlan e Cleonice Palmira Queiroz Furlan, que me apoiaram em todas as decisões da minha vida e sempre estiveram ao meu lado.

A minha família, que sempre me incentivou a buscar pelos meus sonhos.

A minha namorada e companheira Ketillen, que me deu amor, apoio e compreensão durante todo o processo e me incentivou a ser a melhor versão de mim.

Aos meus amigos Joao, Eduardo, Luís, Marcos, Danielle, Caffer, Yane, Rodolfo, Jaque e tantos outros que não consegui lembrar devido à ansiedade que foi escrever essa dissertação, dedico esta conquista, pois sem o companheirismo, a amizade e o apoio de vocês, essa jornada teria sido muito mais difícil. Obrigado por todo o incentivo e por me mostrar o quão importante é o meu trabalho.”

Agradecimentos:

“Primeiramente, gostaria de expressar minha profunda gratidão ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro direcionado a minha pesquisa, por meio do processo 130402/2021-4.

Agradeço também à Universidade Estadual Paulista (UNESP) e ao Instituto de Biociências de Botucatu e pelo suporte financeiro e institucional que possibilitaram a realização deste trabalho.

Agradeço à minha orientadora, Marcia Ortiz Mayo Marques, do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), por todo o seu apoio e orientação ao longo desta jornada e por me permitir usar o seu laboratório em Campinas-SP. Sem sua orientação, conhecimento e conselhos, minha dissertação não seria possível.

Agradeço ao professor Eduardo Micotti da Gloria, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP), e à professora Aline Redondo Martins, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), por cederem seus laboratórios para que eu pudesse realizar minha pesquisa.

Gostaria de agradecer também à Dr^a. Roselaine, que me auxiliou em diversos momentos da pesquisa com ajudas e sugestões que foram essenciais para o desenvolvimento do trabalho.

Aos membros da banca examinadora, pelas correções e contribuições para a melhoria deste trabalho.

Gostaria de agradecer aos meus colegas de laboratório pelo suporte, incentivo e troca de conhecimentos, sem os quais essa pesquisa não seria possível.

Aos professores do curso de Pós-graduação que me deram aulas.

Aos funcionários da sessão de pós-graduação, que sempre foram extremamente solícitos.

Todos vocês foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui, e sou profundamente grato por todo o suporte, incentivo e amor que recebi ao longo desta jornada. Muito obrigado!"

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	1
GENERAL ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	3
2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	7
3. CAPÍTULO I - “Avaliação da influência das estações (seca e chuvosa) na composição química dos óleos essenciais de <i>Baccharis dracunculifolia</i> ”	10
3.1. RESUMO	11
3.2. ABSTRACT	12
3.3. INTRODUÇÃO	13
3.4. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.4.1. Coleta do material vegetal	14
3.4.2. Dados climatológicos	15
3.4.3. Extração dos óleos essenciais	15
3.4.4. Rendimento em óleos essenciais	16
3.4.5. Composição química do óleo essencial de <i>B. dracunculifolia</i> por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).....	16
3.4.6. Composição química do óleo essencial de <i>B. dracunculifolia</i> por cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG×CG-EM).....	17
3.4.7. Análises estatísticas	18
3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
3.5.1. Dados climatológicos	18
3.5.2. Rendimento em óleo essencial.....	19
3.5.3. Composição química dos óleos essenciais de <i>B. dracunculifolia</i> por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).....	21
3.5.4. Composição química dos óleos essenciais de <i>B. dracunculifolia</i> por cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG×CG-EM)	36
3.6. CONCLUSÃO	44
3.7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	44
4. CAPÍTULO II - Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de <i>Baccharis dracunculifolia</i> contra <i>Aspergillus nomius</i> , <i>Fusarium graminearum</i> e <i>Fusarium verticillioides</i>	46
4.1. RESUMO	47
4.2. ABSTRACT	48
4.3. INTRODUÇÃO	49

4.4. MATERIAL E MÉTODOS	50
4.4.1. Coleta do material vegetal e extração dos óleos essenciais	50
4.4.2. Composição química do óleo essencial de <i>B. dracunculifolia</i>	51
4.4.3. Avaliação preliminar da atividade antifúngica dos óleos essenciais de <i>B. dracunculifolia</i> a concentração de 2 mL/L contra <i>A. nomius</i> ; <i>F. graminearum</i> e <i>F. verticillioides</i>	52
4.4.4. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de <i>B. dracunculifolia</i> em diferentes concentrações (2; 4; 6; 8 mL/L) contra <i>A. nomius</i> ; <i>F. graminearum</i> e <i>F. verticillioides</i>	54
4.4.5. Análises estatísticas	55
4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.5.1. Avaliação preliminar da atividade antifúngica dos óleos essenciais de <i>B. dracunculifolia</i> a concentração de 2 mL/L contra <i>A. nomius</i> ; <i>F. graminearum</i> e <i>F. verticillioides</i>	56
4.5.2. Composição química dos óleos essenciais de <i>B. dracunculifolia</i>	62
4.5.3. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais de <i>B. dracunculifolia</i> em diferentes concentrações (2; 4; 6; 8 mL/L) contra <i>A. nomius</i> ; <i>F. graminearum</i> e <i>F. verticillioides</i>	64
4.6. CONCLUSÃO	70
4.7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	70
5. CAPÍTULO III – Avaliação da influência das estações (seca e chuvosa) na densidade de tricomas glandulares em folhas de <i>Baccharis dracunculifolia</i> (Asteraceae)	74
5.1. RESUMO	75
5.2. ABSTRACT	76
5.3. INTRODUÇÃO	77
5.4. MATERIAL E MÉTODOS	78
5.4.1. Coleta do material vegetal	78
5.4.2. Densidade de tricomas glandulares de <i>B. dracunculifolia</i>	79
5.4.3. Análises estatísticas	80
5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
5.5.1. Densidade de tricomas glandulares	80
5.6. CONCLUSÃO	85
5.7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	85
6. CONCLUSÃO GERAL	87

RESUMO GERAL

Os óleos essenciais de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia* DC.) apresentam potencial bactericida, anti-inflamatório e antifúngico. Fatores abióticos podem afetar, quantitativamente e qualitativamente, a produção dos óleos essenciais, bem como as estruturas que os secretam. O estudo teve como objetivos avaliar a influência da estação seca e chuvosa no rendimento e na composição química dos óleos essenciais de *B. dracunculifolia*, bem como na densidade de tricomas glandulares das folhas e a atividade dos óleos essenciais contra fungos do gênero *Aspergillus* e *Fusarium*. Para isso, foram realizadas coletas das partes aéreas de 15 indivíduos de uma população de *B. dracunculifolia* nos meses de setembro de 2021 e março de 2022, respectivamente. Os óleos essenciais das folhas foram extraídos por hidrodestilação em aparato Clevenger e a análise da composição química foi determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG×CG-EM). A densidade dos tricomas glandulares das folhas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura. Os óleos essenciais foram testados contra fungos *Aspergillus nomius*; *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides*, através de diluição em diferentes concentrações em meio de cultura BDA contendo emulsificante, para a determinação das porcentagens de inibição. O rendimento dos óleos essenciais foi maior na estação chuvosa (0,70%) quando comparado com a estação seca (0,53%). Os principais constituintes nos óleos essenciais foram *trans*-nerolidol, β -pineno, limoneno e espatulenol, com porcentagens que variaram de indivíduo para indivíduo e de acordo com a estação coletada dando indícios de variabilidade química intraespecífica e de influências sazonais na composição. Análises estatísticas multivariadas indicaram variação na composição química dos óleos essenciais entre os indivíduos de uma mesma população de *B. dracunculifolia*, tanto entre as estações de coleta, quanto na mesma coleta. Não foram observadas variações significativas na contagem de tricomas glandulares entre as estações seca e chuvosa, porém foram detectadas diferenças entre as superfícies abaxiais e adaxiais dos indivíduos. Foi observado que os óleos essenciais de *B. dracunculifolia* apresentaram potenciais inibitórios contra os fitopatógenos. Alguns indivíduos de *B. dracunculifolia* apresentaram maior potencial antifúngico, destacando-se 1BD02 (25,30% contra *A. nomius* e 24,42% contra *F. verticillioides*), 1BD05 (19,67% contra *F. verticillioides*), 1BD06 (40,24% contra *F. graminearum*), 2BD06 (28,40% contra *F. graminearum*) e 2BD13 (contra *F. verticillioides*), 72 horas após a inoculação dos esporos.

Palavras chave: sazonalidade; substâncias voláteis; composição química; cromatografia gasosa bidimensional abrangente (CG×CG-EM); microscopia eletrônica de varredura (MEV); antifúngicos naturais

GENERAL ABSTRACT

The essential oils of *Baccharis dracunculifolia* DC., commonly known as "alecrim-do-campo," exhibit bactericidal, anti-inflammatory, and antifungal potential. Abiotic factors can quantitatively and qualitatively affect the production of essential oils, as well as the structures that secrete them. The objectives of this study were to evaluate the influence of the dry and rainy seasons on the yield and chemical composition of *B. dracunculifolia* essential oils, as well as on the density of glandular trichomes on the leaves and the activity of the essential oils against fungi of the *Aspergillus* and *Fusarium* genera. To accomplish this, aerial parts were collected from 15 individuals of a *B. dracunculifolia* population in September 2021 and March 2022, respectively. The essential oils from the leaves were extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus, and the chemical composition was determined by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC×GC-MS). The density of glandular trichomes on the leaves was evaluated using scanning electron microscopy. The essential oils were tested against fungi of the *Aspergillus* and *Fusarium* genera by diluting them at different concentrations in potato dextrose agar medium containing an emulsifier to determine the inhibition percentages. The yield of essential oils was higher during the rainy season (0.70%) compared to the dry season (0.53%). The main detected constituents were trans-nerolidol, β -pinene, limonene, and spathulenol, with percentages varying among individuals and according to the season of collection, indicating intra-specific chemical variability and seasonal influences on composition. Multivariate statistical analyses indicated variation in the chemical composition of essential oils among individuals within the same *B. dracunculifolia* population, both between collection seasons and within the same collection. No significant variations in the count of glandular trichomes were observed between the dry and rainy seasons, but differences were detected between the abaxial and adaxial surfaces of the individuals. It was observed that the essential oils of *B. dracunculifolia* exhibited inhibitory potential against phytopathogens. Some individuals of *B. dracunculifolia* showed higher antifungal potential, notably 1BD02 (25.30% against *A. nomius* and 24.42% against *F. verticillioides*), 1BD05 (19.67% against *F. verticillioides*), 1BD06 (40.24% against *F. graminearum*), 2BD06 (28.40% against *F. graminearum*), and 2BD13 (against *F. verticillioides*), 72 hours after spore inoculation.

Keywords: seasonality; volatile substances; chemical composition; comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC-MS); scanning electron microscopy (SEM); natural antifungals.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é reconhecido como um dos países com maior biodiversidade do mundo, graças à sua ampla variedade de biomas e ecossistemas. A flora brasileira apresenta a maior diversidade genética vegetal do planeta, o que confere ao país um enorme potencial para o desenvolvimento socioeconômico através da produção de corantes, óleos vegetais, gorduras, fitoterápicos e compostos com propriedades terapêuticas, como os óleos essenciais, que possuem atividades antioxidantes e antimicrobianas. Esses recursos naturais são de grande importância para a economia e para a saúde humana, destacando a relevância da preservação e da utilização sustentável da biodiversidade brasileira.

O clima da região do Cerrado é composto por longos períodos de seca, que vão de abril a setembro, seguido de longos períodos de chuva, que vão de outubro até março. O Cerrado é uma das regiões mais biodiversas do Brasil, com grande variedade de espécies de fauna e flora, o que o torna um importante patrimônio natural do país. Entretanto, a importância desse bioma ainda é pouco conhecida pela sociedade e sua preservação enfrenta desafios, como a expansão agropecuária e a falta de políticas públicas efetivas de conservação (KLINK e MACHADO, 2005). Apesar disso, é fundamental reconhecer e valorizar a biodiversidade do Cerrado, não apenas pela sua relevância científica e ecológica, mas também pelos benefícios econômicos que podem ser gerados a partir dela, como a produção de alimentos, medicamentos e outros produtos.

A família das Asteraceae representa cerca de 8 a 10% de toda a flora global, abrigando aproximadamente 22.750 espécies em 1.620 gêneros, possuindo diversas espécies de interesse econômico, suprimindo interesses farmacêuticos, agrícolas, industriais e ornamentais (DEL VITTO & PETENATTI, 2009; DEL VITTO & PETENATTI, 2015). Somente no Brasil, ocorrem mais de 2.000 espécies desta família distribuídos em mais de 270 gêneros distribuídos por todo o território nacional (ROQUE et al., 2017).

Baccharis é um dos maiores gêneros desta família, compreendendo cerca de 500 espécies, cuja maioria se encontra na América Latina. Em geral, as espécies deste gênero apresentam, formas arbustivas, que variam de 0.5 a 4 m de altura, sendo que no Brasil podemos citar como exemplo a “carqueja” (*B. trimera*) e o “alecrim-do-campo” (*B. dracunculifolia*), que são espécies muito utilizadas na medicina popular. Este gênero possui aspectos econômicos importantes para as indústrias farmacêuticas, de perfumaria e de cosméticos (VERDI et al., 2005).

Baccharis dracunculifolia DC. é uma espécie nativa do Brasil, conhecida popularmente como “alecrim-do-campo” ou “vassourinha”, muito utilizada na medicina popular para combater distúrbios gastrointestinais, febre e fadiga (BUDEL et al., 2004). Esta espécie se localiza em biomas como o Pampa, Cerrado e Mata Atlântica (HEIDEN; SCHNEIDER, 2015), com altura variando entre 2 e 3 m (GOMES & FERNANDES, 2002), as folhas são simples e alternas, medindo cerca de 30 mm de comprimento, possuem uma grande quantidade de tricomas pluricelulares glandulares na epiderme, responsáveis pela secreção de resinas e óleos essenciais de composição química variada (OLIVEIRA & BASTOS, 1999).

B. dracunculifolia é a principal fonte de própolis verde produzido por *Apis mellífera* na região sudeste do Brasil. Estudos realizados por Bankova et al., (1999), indicaram que essas abelhas têm preferência por essa espécie de planta na produção deste produto, que é muito utilizado para a proteção contra fungos e bactérias na colmeia, além de ser muito utilizado como um medicamento natural pelo ser humano, devido as suas ações antivirais, antitumorais, antibióticas, entre outras (PARK et al., 2004).

Estudos com os extratos e óleos essenciais de *B. dracunculifolia* demonstraram propriedades antiparasitárias (PARREIRA et al., 2010), antibacterianas (BONIN et al., 2020), antioxidantes (TOMAZZOLI et al., 2021), antimicrobianas (VEIGA et al., 2017), antivirais (BUFALO et al., 2009), antiulcerogênicas (MASSIGNANI et al., 2009), anti-inflamatórias (BRADENBURG et al., 2020) e antifúngicas (SILVA FILHO et al., 2008).

O óleo essencial de *B. dracunculifolia* inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa* (CAZELLA et al., 2019; SALAZAR et al., 2018). Além disso, o óleo essencial demonstrou potencial no combate de parasitas, incluindo *Leishmania donovani* e *Schistosoma mansoni*, responsáveis por causar doenças como a leishmaniose e a esquistossomose, respectivamente (PARREIRA et al., 2010). O óleo essencial também se mostrou eficaz contra as larvas do mosquito *Culex quinquefasciatus*, um dos principais vetores da filariose, e as pré-pupas da mosca-da-bicheira *Cochliomyia hominivorax*, uma das principais causadoras de miiases (ALVES et al., 2018; SEUGLING, 2019).

Estudos constataram a atividade antifúngica do óleo essencial de *B. dracunculifolia* contra fungos do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C.*

parapsilosis e *C. tropicalis*) isolados das cavidades orais de crianças em período de amamentação (PEREIRA et al., 2011). Testes realizados em fungos da espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, principal causador da antracnose em frutos de interesse comercial, demonstraram bom efeito inibitório do óleo essencial de *B. dracunculifolia* nesta espécie (BONETT, 2012), assim como, para os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia minor*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*, (FONSECA et al., 2015). A crescente resistência das cepas tem demandado a busca de novos medicamentos e defensivos agrícolas com ação antifúngica, constituindo uma oportunidade para o potencial uso dos óleos essenciais como alternativa.

Os fungos do gênero *Aspergillus* e *Fusarium* são conhecidos por causar danos significativos à indústria agropecuária, afetando o plantio, colheita e armazenamento de grãos e cereais, bem como por produzir micotoxinas prejudiciais à saúde humana e animal. O fungo *Aspergillus nomius* é capaz de produzir a aflatoxina, uma micotoxina extremamente prejudicial capaz de causar problemas como hepatite, cirrose e câncer, enquanto *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum* são produtores de fumonisinas e deoxinivalenol, respectivamente, que podem contaminar grãos e cereais, como milho, trigo e arroz e causar doenças hepáticas, câncer, problemas imunológicos e reprodutivos e até mesmo a morte em humanos, em casos extremos (CASTRO et al., 2014; DEEPA & SREENIVASA, 2017; PRESTES et al., 2019). A utilização de óleos essenciais como uma alternativa para o controle desses fungos é promissora.

O óleo essencial de *B. dracunculifolia* é rico em sesquiterpenos, incluindo o *trans*-nerolidol, o germacreno D, o biciclogermacreno, o *trans*-cariofileno e o espatulenol, que foram encontrados como constituintes majoritários em um estudo realizado por Massignani et al. (2009) com partes aéreas da planta coletadas em Franca (SP). Populações naturais de *B. dracunculifolia*, coletadas em Campos do Jordão, Ubatuba e Campinas, apresentaram como composto majoritário o *trans*-nerolidol, com percentuais relativos variando de 21,6% a 40,8% (BELINI, 2015). Sesquiterpenos, como o β -cariofileno, o β -selineno, o globulol, o viridiflorol e o α -cadinol, também já foram relatados em grandes abundâncias em óleo essencial de *B. dracunculifolia* (FERRACINI et al., 1995; AGOSTINI et al., 2005). Frizzo et al. (2008) compararam o óleo essencial de amostras de *B. dracunculifolia* coletadas no Brasil, Bolívia e Uruguai e verificaram diferenças significativas na sua composição química, destacando que as amostras

coletadas no Brasil apresentaram grande quantidade de *trans*-nerolidol, enquanto na Bolívia ou Uruguai a concentração desta substância foi considerada baixa ou inexistente. Rigotti (2011) também constatou diversidade genética e química em diferentes populações de *B. dracunculifolia* no território brasileiro, o mesmo foi observado por Belini (2015).

Além dos fatores genéticos e epigenéticos, fatores abióticos, como altitude, ritmo circadiano, propriedades físicas do solo, incidência luminosa, disponibilidade hídrica, temperatura e sazonalidade podem interferir na concentração e composição de metabólitos especializados nas plantas (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SELMAR & KLEINWÄCHTER, 2013). Dentre estes metabólitos, estão os óleos essenciais, como observado por Ferracini et al. (1995), que revelaram que o rendimento de óleos essenciais de *B. dracunculifolia* é maior durante o período chuvoso, e que a proporção relativa entre os monoterpenos e sesquiterpenos varia de acordo com os diferentes períodos do ano. Isso também foi demonstrado por Oliveira et al. (2017), que avaliaram a influência de diferentes temperaturas e disponibilidades hídricas na produção de óleo essencial de *Mentha piperita*, constatando um aumento na concentração de mentol em temperaturas mais baixas e um maior rendimento, dependendo da disponibilidade hídrica.

Os tricomas glandulares, estruturas especializadas presentes nas folhas, flores e frutos de muitas plantas, são responsáveis pela síntese e armazenamento de óleos essenciais e outros metabólitos especializados (GONÇALVES et al., 2007). A densidade e distribuição de tricomas glandulares também podem ser afetadas por vários fatores, como a temperatura, a luminosidade, a umidade do solo e do ar, bem como a presença de herbívoros e patógenos (DUDAREVA et al., 2013; MARTINEZ-NATARÉN et al., 2011; TOZIN, et al., 2015).

Embora existam relatos abordando a composição química dos óleos essenciais de *B. dracunculifolia*, estudos sobre a influência da sazonalidade no rendimento e composição química dos óleos essenciais desta espécie, em especial na estação seca e chuvosa, são escassos. Até o momento, não foram identificados estudos sobre a ação antifúngica de óleos essenciais de indivíduos de uma população *B. dracunculifolia* contra *Aspergillus nomius*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum*, a fim de constatar se existem diferenças nas atividades antifúngicas dependem dos indivíduos avaliados. Estudos sobre a influência da sazonalidade na densidade dos tricomas glandulares em folhas da espécie também são inexistentes.

Dessa forma, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a densidade dos tricomas glandulares das folhas, composição química e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia*. Como objetivos específicos foram avaliadas: 1) a densidade dos tricomas glandulares das folhas de *B. dracunculifolia* em função das épocas de coleta (estação seca e chuvosa), 2) influência das estações seca e chuvosa no rendimento e composição química dos óleos essenciais e 3) a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente a *Aspergillus nomius*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum*.

2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

Agostini, F.; Santos, A C. A.; Rossato, M.; Pansera, M. R.; Zattera, F.; Wasum, R.; Serafini, L. A. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil, 2005. Revista Brasileira de Farmacognosia, 15 (3), pp. 215-220.

Belini, C. M. B. (2015). *Baccharis dracunculifolia* DC.(Asteraceae): Composição do óleo essencial, diversidade e parâmetros genéticos.

Bonin, E., Carvalho, V.M., Avila, V.D., dos Santos, N.C.A., Benassi-Zanqueta, É., Lancheros, C.A.C., Previdelli, I.T.S., Ueda-Nakamura, T., de Abreu Filho, B.A. and do Prado, I.N., 2020. *Baccharis dracunculifolia*: Chemical constituents, cytotoxicity and antimicrobial activity. LWT, 120, p.108920.

Brandenburg, M.M., Rocha, F.G., Pawloski, P.L., da Silva Soley, B., Rockenbach, A., Scharf, D.R., Heiden, G., Ascari, J., Cabrini, D.A. and Otuki, M.F., 2020. *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) essential oil displays anti-inflammatory activity in models of skin inflammation. Journal of ethnopharmacology, 259, p.112840.

Bankova, Vassya et al. Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from São Paulo State. Zeitschrift für Naturforschung C, v. 54, n. 5-6, p. 401-405, 1999.

Budel, J.M., Duarte, M.D.R., Santos, C.D.M. and Farago, P.V., 2004. Morfoanatomia foliar e caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. Acta Farm. Bonaerense, 23(4), pp.477-483.

Búfalo, M.C., Figueiredo, A.S., De Sousa, J.P.B., Candeias, J.M.G., Bastos, J.K. and Sforcin, J.M., 2009. Anti-poliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR. Journal of applied microbiology, 107(5), pp.1669-1680.

Deepa, N.; Sreenivasa, M. Y. *Fusarium verticillioides*, a globally important pathogen of agriculture and livestock: a review. Journal of Veterinary Medicine and Research, v. 4, n. 4, 2017.

- Del Vitto, L.A. and Petenatti, E.M., 2009. Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. *Multequina*, (18), pp.87-115.
- Del Vitto, L.A. and Petenatti, E.M., 2015. Asteráceas de importancia económica y ambiental Segunda parte: Otras plantas útiles y nocivas. *Multequina*, (24), pp.47-74.
- Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J. K., & Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist*, 198(1), 16-32.
- Esper, Renata H. et al. Potential of essential oils for protection of grains contaminated by aflatoxin produced by *Aspergillus flavus*. *Frontiers in microbiology*, v. 5, p. 269, 2014.
- Ferracini, V., L. Óleos Essenciais de *Baccharis* e sua interação com insetos polinizadores. 1995, 205f. Tese (Doutorado). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Gobbo-Neto, L. and Lopes, N.P., 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova*, 30(2), pp.374-381
- Gomes, V. and Fernandes, G.W., 2002. Germinação de aquênios de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica*, 16(4), pp.421-427.
- Gonçalves, E.G.; Lorenzi, H., 2007. *Morfologia Vegetal: Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares*. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 446p.
- Goswami, Rubella S.; KISTLER, H. Corby. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular plant pathology*, v. 5, n. 6, p. 515-525, 2004.
- Heiden, G.; Schneider, A. *Baccharis* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Disponível em: Acesso em: 20 jun. 2021.
- Klink, Carlos A.; Machado, Ricardo B. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.
- Martínez-Natarén, Daniela A. et al. Morphology and density of glandular trichomes in populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* HBK, *Verbenaceae*), and the relationship between trichome density and climate¹. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, v. 138, n. 2, p. 134-144, 2011.
- Massignani, J.J., Lemos, M., Maistro, E.L., Schaphauser, H.P., Jorge, R.F., Sousa, J.P.B., Bastos, J.K. and de Andrade, S.F., 2009. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(10), pp.1355-1360
- Oliveira, R. A. D., Nogueira, P. C. L., & Marques, M. O. M. (2017). Effects of temperature and water availability on the essential oil production of *Mentha piperita* L. *Journal of Essential Oil Research*, 29(4), 305-311

- Parreira, N.A., Magalhães, L.G., Moraes, D.R., Caixeta, S.C., de Sousa, J.P., Bastos, J.K., Cunha, W.R., Silva, M.L., Nanayakkara, N.P.D., Rodrigues, V. and da Silva Filho, A.A., 2010. Antiprotozoal, schistosomicidal, and antimicrobial activities of the essential oil from the leaves of *Baccharis dracunculifolia*. *Chemistry & Biodiversity*, 7(4), pp.993-1001.
- Prestes, Isabele D. et al. Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. *Scientia Agropecuaria*, v. 10, n. 4, p. 559-570, 2019.
- Rigotti, M. (2011). *Baccharis dracunculifolia* DC: diversidade genética e química de populações.
- Roque, N.; Teles, A.M.; Nakajima, J.N., 2017. A família *Asteraceae* no Brasil: classificação e diversidade [online]. Salvador: EDUFBA, 2017, 260 p. ISBN: 978-85-232-1999-4.
- Selmar, D.; Kleinwächter, M. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, v. 42, n. 1, p. 558–566, 2013.
- Silva Filho, A.A., de Sousa, J.P., Soares, S., Furtado, N.A., e Silva, M.L.A., Cunha, W.R., Gregório, L.E., Nanayakkara, N.D. and Bastos, J.K., 2008. Antimicrobial activity of the extract and isolated compounds from *Baccharis dracunculifolia* DC (*Asteraceae*). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63(1-2), pp.40-46.
- Tomazzoli, M.M., Amaral, W.D., Cipriano, R.R., Tomasi, J.D.C., Gomes, E.N., Ferriani, A.P., Maia, B.H. and Deschamps, C., 2021. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Populations of *Baccharis dracunculifolia* DC. in Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64.
- Tozin, L. R. S.; Marques, M.O. M; Rodrigues, T. M., 2015. Glandular trichome density and essential oil composition in leaves and inflorescences of *Lippia origanoides* Kunth (*Verbenaceae*) in the Brazilian Cerrado. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (Online), 87, pp. 943-953.
- Veiga, R.S., De Mendonça, S., Mendes, P.B., Paulino, N., Mimica, M.J., Lagareiro Netto, A.A., Lira, I.S., López, B.C., Negrão, V. and Marcucci, M.C., 2017. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. *Journal of Applied Microbiology*, 122(4), pp.911-920.
- Verdi, L.G., Brighente, I.M.C. and Pizzolatti, M.G., 2005. Gênero *Baccharis* (*Asteraceae*): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química nova*, 28(1), pp.85-94.
- Oliveira, C. and Bastos, E.M., 1998. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (*Asteraceae*) visando a identificação da origem botânica da própolis. *Acta bot. bras.*, 12(3), pp.431-439.

6. CONCLUSÃO GERAL

De uma forma geral, é possível concluir que o rendimento de óleos essenciais e a composição química dos óleos essenciais da população de *B. dracunculifolia* localizada em Águas de Santa Barbara - SP é influenciada pelos períodos de seca e de chuva. Foi observado que a estação seca favorece o rendimento dos óleos essenciais. Além deste resultado, foi observada diversidade química intraespecífica nos óleos essenciais desta população. A técnica de cromatografia gasosa bidimensional abrangente permitiu a detecção e identificação de um número muito maior de substâncias, sendo de suma importância para estudos posteriores acerca desta espécie. Estes resultados são importantes para a determinação de melhores períodos de colheita.

Os estudos de avaliação de atividade antifúngica demonstraram que existem indivíduos cujo óleo essencial apresentam maior porcentagem inibitória contra os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*, tais resultados evidenciam a importância do estudo de diferentes genótipos para uma espécie para a seleção daqueles cuja composição química atende as diferentes aplicações dos óleos essenciais, por exemplo, farmacêutico, cosmético, etc. Estudos complementares se fazem necessários para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais de *B. dracunculifolia* e também em campo, para avaliar a efetividade destes óleos essenciais como defensivos agrícolas naturais.

Não foi observada diferença significativa na densidade de tricomas glandulares nas superfícies das folhas de *B. dracunculifolia* entre os períodos de coleta (estação seca e chuvosa), apesar de haver diferença significativa entre as superfícies abaxiais e adaxiais.