

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**ANATOMIA FOLIAR E INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO ÓLEO
ESSENCIAL DE POPULAÇÕES DE *Lychnophora pinaster* Mart.**

MÔNICA TIHO CHISAKI ISOBE

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU-SP
Agosto-2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**ANATOMIA FOLIAR E INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO ÓLEO
ESSENCIAL DE POPULAÇÕES DE *Lychnophora pinaster* Mart.**

MÔNICA TIHO CHISAKI ISOBE

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marcia Ortiz Mayo Marques

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU-SP
Agosto-2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA
- LAGEADO - BOTUCATU (SP)

I85a Isobe, Mônica Tiho Chisaki, 1988-
 Anatomia foliar e influência da sazonalidade no óleo
 essencial de populações de *Lychnophora pinaster* Mart. /
 Mônica Tiho Chisaki Isobe. - Botucatu : [s.n.], 2012
 xi, 93 f. : il. color., gráfs., tabs., fots., maps.

 Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
 Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2012
 Orientador: Márcia Ortiz Mayo Marques
 Inclui bibliografia

 1. Arnica. 2. Folhas - Anatomia. 3. Óleos essenciais.
 4. Sazonalidade. I. Marques, Márcia Ortiz Mayo.
 II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
 Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências
 Agronômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

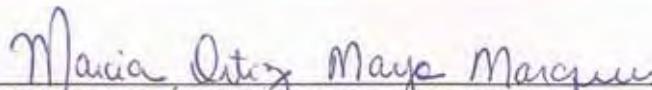
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "ANATOMIA FOLIAR E INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO ÓLEO
ESSENCIAL DE POPULAÇÕES DE *Lychnophorapinaster* Mart."

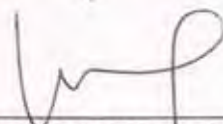
ALUNA: MÔNICA TIHO CHISAKI ISOBE

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

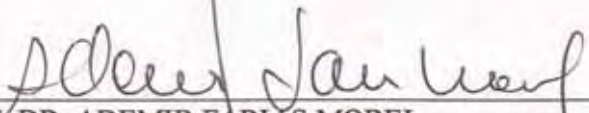
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF^a DR^a MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES



PROF. DR. LIN CHAU MING



PROF. DR. ADEMIR FARIAS MOREL

Data da Realização: 31 de agosto de 2012.

“O conhecimento do conhecimento obriga-nos a assumir uma atitude de permanente vigília contra a tentação da certeza. A reconhecer que nossas certezas não são provas da verdade...”

(Humberto Maturana)

Dedico e ofereço à minha família, em especial à minha mãe, Herena, meu amor e meu pilar.

AGRADECIMENTOS

- À Dr^a. Marcia Ortiz Mayo Marques, pela orientação, dedicação, paciência, constante apoio e amizade, e acima de tudo, pela oportunidade e por me receber desde o primeiro momento, por estar sempre de portas abertas para nos ouvir. Meus sinceros agradecimentos.
- À Dr^a. Sílvia Rodrigues Machado pela orientação e oportunidade de desenvolver as atividades relacionadas à anatomia foliar, e pelos conselhos na área de botânica que me ajudaram a observar os fatores relacionados às nossas plantas por outra perspectiva.
- À Clívia e Ivy, obrigada pelo tempo dispendido me ensinando sobre as técnicas de anatomia foliar, pela dedicação e por enxergar “coelhos por trás das cartolas”.
- À Faculdade de Ciências Agrônomicas-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Mestrado em Agronomia (Horticultura) pela oportunidade e à Capes, pela concessão da bolsa de mestrado.
- Ao Prof. Lin Chau Ming, pela orientação quando tudo parecia perdido, pelos momentos divertidos em Botucatu-SP, pelo exemplo de otimismo e simplicidade.
- Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais do Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais: Daniela, Lenita, Maria Aparecida, Roselaine, Talita, Régia, Paulo, Daniel, Beatriz, pela ajuda nas coletas, no desenvolvimento do trabalho e pela convivência.
- Ao Prof. Dr. Santino Seabra Júnior, obrigada pelo apoio, pelos conselhos e pelo incentivo à vida acadêmica na graduação.
- Aos amigos da FCA-UNESP: Gabi Ferraz, Karol, Anne, Gabi Gonçalves, Ana Emília, Iza, Mel, Amanda, Kelly, Daniel Garcia, Rosângela, obrigada pelos bons momentos em Botucatu!
- Aos amigos Mateus e Tuane, obrigada pelo apoio e pela disposição em ajudar sempre!
- Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal – Horticultura, em especial ao pessoal do Pomar, pela constante ajuda e disposição.
- Aos novos amigos de Campinas-SP: Cecília e Patrícia, por ser a família fora de casa e pela paciência nos momentos ausentes. Aos amigos Rafael, Manu, André, Francisco, obrigada pelos bons momentos! E aos velhos amigos, Flávia, Issao, Henrique, Roberto, Maiara, pelo apoio nos momentos difíceis, mesmo que distantes. Se alguém não está aqui agora, saiba que está no coração!
- À família, por ser a base e apoio em todos os momentos, bons ou ruins.

-Ao namorado, Fabrício, e sua família, por toda ajuda valiosa desde o início do mestrado até o término.

-À todos que de forma direta ou indireta participaram e contribuíram pelo caminho rumo ao amadurecimento e aprendizagem.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
1. RESUMO	1
2. SUMMARY	3
3. INTRODUÇÃO	5
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
4.1. O gênero <i>Lychnophora</i> e a espécie <i>Lychnophora pinaster</i> Mart.	9
4.2. Atividade biológica e óleos essenciais de <i>Lychnophora pinaster</i>	11
4.3. Influência de fatores ambientais na produção de óleo essencial	13
4.4 Aspectos agrônômicos de <i>Lychnophora pinaster</i>	15
4.5. Anatomia vegetal	16
5. MATERIAL E MÉTODOS	20
5.1. Coleta do material vegetal	20
5.2. Extração e análise da composição química do óleo essencial	22
5.3. Anatomia foliar	23
5.4. Análise estatística	25
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6.1. Avaliação do rendimento e da composição química média dos óleos essenciais das populações de <i>L. pinaster</i>	26
6.2. Composição química dos óleos essenciais de <i>L. pinaster</i> por população	32
6.3. Anatomia foliar de <i>Lychnophora pinaster</i> Mart.	61
7. CONCLUSÕES	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
9. APÊNDICES	77
APÊNDICE 1	77
APÊNDICE 2	79
APÊNDICE 3	82
APÊNDICE 4	85
APÊNDICE 5	87
APÊNDICE 6	90
APÊNDICE 7	93

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Quadro com as distâncias médias percorridas entre os locais de coleta, em quilômetros.....	21
Tabela 2: Rendimento médio (%) de óleo essencial de <i>L. pinaster</i> , de três populações, coletadas no inverno e no verão de 2011, Minas Gerais..	27
Tabela 3: Substâncias majoritárias (% relativa média) dos óleos essenciais de folhas das três populações de <i>L. pinaster</i> , coletadas no inverno e no verão de 2011, Minas Gerais..	28
Tabela 4: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de <i>Lychnophora pinaster</i> provenientes da população Poço Bonito, município de Lavras-MG, coleta de inverno de 2011.....	33
Tabela 5: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de <i>Lychnophora pinaster</i> provenientes da população Poço Bonito, município de Lavras-MG, coleta de verão de 2011.....	36
Tabela 6: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de <i>Lychnophora pinaster</i> provenientes da população Serra do Sofá, município de Itumirim-MG, coleta de inverno de 2011.	40
Tabela 7: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de <i>Lychnophora pinaster</i> provenientes da população Serra do Sofá, município de Itumirim-MG, coleta de verão de 2011.....	42
Tabela 8: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de <i>Lychnophora pinaster</i> provenientes da população Areia Branca, município de Carrancas-MG, coleta de inverno de 2011.	48
Tabela 9: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de <i>Lychnophora pinaster</i> provenientes da população Areia Branca, município de Carrancas-MG, coleta de verão de 2011.....	52
Tabela 10: Testes histoquímicos realizados em folhas de <i>L. pinaster</i> ..	68

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: A: <i>Lychnophora ericoides</i> proveniente de Capitólio-MG; B: <i>Lychnophora pinaster</i> proveniente de Olhos D'Água-MG. (Vieira, 2010)	10
Figura 2: <i>Lychnophora pinaster</i> : A: fase jovem e plântulas; B: fase adulta. (Isobe, 2011).....	11
Figura 3: Mapa da região de coleta (Fonte: Google Earth, 2012).....	21
Figura 4: Estrutura química das substâncias majoritárias dos óleos essenciais de <i>Lychnophora pinaster</i> Mart	28
Figura 5: Análise de componentes principais do óleo essencial de <i>Lychnophora pinaster</i> , população Poço Bonito, Lavras-MG. Coleta de inverno de 2011	34
Figura 6: Análise de componentes principais do óleo essencial de <i>Lychnophora pinaster</i> , população Poço Bonito, Lavras-MG. Coleta de verão de 2011.	37
Figura 7: Análise de componentes principais da população Poço Bonito, Lavras-MG, em relação ao período de coleta.	38
Figura 8: Análise de componentes principais do óleo essencial de <i>Lychnophora pinaster</i> , população Serra do Sofá, Itumirim-MG. Coleta de inverno de 2011.....	44
Figura 9: Análise de componentes principais do óleo essencial de <i>Lychnophora pinaster</i> , população Serra do Sofá, Itumirim-MG. Coleta de verão de 2011.	45
Figura 10: Análise de componentes principais da população Serra do Sofá, Itumirim-MG. Disposição das substâncias majoritárias em relação ao período de coleta.....	46
Figura 11: Análise de componentes principais do óleo essencial de <i>Lychnophora pinaster</i> , população Areia Branca, Carrancas-MG. Coleta de inverno de 2011.	56
Figura 12: Análise de componentes principais do óleo essencial de <i>Lychnophora pinaster</i> , população Areia Branca, Carrancas-MG. Coleta de verão de 2011.....	57
Figura 13: Análise de componentes principais da população Areia Branca, Carrancas-MG. Disposição das substâncias majoritárias em relação ao período de coleta.	59
Figura 14: Vista geral de uma folha jovem evidenciando a grande quantidade de tricomas glandulares Barra: 2 mm.....	62
Figura 15: Vista geral de uma folha adulta, evidenciando a menor densidade de tricomas. Barra: 2 mm.....	62
Figura 16: Secção transversal de folha jovem, notar diferença no estágio de desenvolvimento do tricoma glandular. Barra: 100 µm	62
Figura 17: Estômato elevado, localizada na face abaxial. Barra: 20 µm	62
Figura 18: Tricoma glandular presente na face adaxial de folha jovem, notar cutícula expandida. Barra: 50 µm.	62
Figura 19: Tricoma glandular presente na face adaxial de folha jovem com cutícula rompida. Barra: 20 µm.....	62
Figura 20: Folha adulta, notar presença de tricomas glandulares totalmente desenvolvidos na face abaxial e tricomas glandulares da face adaxial em abscisão. Coloração branco, Barra: 100 µm.	64
Figura 21: Tricoma glandular presente na face adaxial de folha jovem. Coloração azul mercúrio de bromofenol. Barra: 20 µm	64
Figura 22: Folha jovem, presença de tricomas glandulares em formação na face abaxial e tricoma glandular desenvolvido na face adaxial. Coloração PAS, Barra: 20 µm.....	64

- Figura 23:** Tricoma glandular localizado na face adaxial com cutícula rompida, notar adisposição das células que o forma. Coloração azul de toluidina, Barra: 20 μm 64
- Figura 24:** Folha jovem, presença de tricomas glandulares em formação na face abaxial e tricoma glandular desenvolvido na face adaxial. Coloração sudan IV, Barra: 50 μm 64
- Figura 25:** Detalhe de tricoma glandular de folha jovem localizado na face adaxial; notar reação positiva para lipídios através do teste histoquímico com sudan IV (Coloração alarajanda), evidenciando a presença de secreção no espaço cuticular do tricoma. Coloração sudan IV. Barra: 20 μm 64
- Figura 26:** Visão geral de folha jovem, notar a presença de tricomas glandulares desenvolvidos na face adaxial. Coloração PAS. Barra: 200 μm 66
- Figura 27:** Detalhe de folha jovem, evidenciando a presença de tricomas glandulares na face adaxial totalmente desenvolvidos e na face abaxial tricomas glandulares em desenvolvimento. Coloração PAS. Barra: 50 μm 66
- Figura 28:** Folha adulta, notar que nesta fase os tricomas glandulares da face abaxial estão desenvolvidos e secretores, com a cutícula distendida já os tricomas glandulares da face adaxial estão, em sua maioria, com a cutícula rompida. Coloração NADI. Barra: 150 μm 66
- Figura 29:** Detalhe de folha adulta demonstrando a presença dos estômatos e evidenciando a cutícula espessa. Coloração PAS. Barra: 200 μm 66

1. RESUMO

A espécie *Lychnophora pinaster*, espécie microendêmica do Cerrado brasileiro, encontra-se na categoria vulnerável da lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais. Amplamente utilizada na medicina popular, esta espécie sofre o impacto do constante extrativismo desordenado e a degradação do seu ambiente natural. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de duas épocas de colheita (verão e inverno) no rendimento e na composição química dos óleos essenciais de populações nativas de *Lychnophora pinaster* Mart e caracterizar morfológicamente as folhas e os tricomas glandulares, gerando informações relevantes para potencial uso da espécie. Foram amostradas três populações nativas de *L. pinaster*, oriundas dos municípios de Carrancas, Lavras e Itumirim no Estado de Minas Gerais. O óleo essencial das folhas de cada indivíduo foi extraído por hidrodestilação e analisados em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM, Shimadzu, QP-5000). Para a caracterização da anatomia foliar foram selecionadas folhas jovens e adultas de um indivíduo proveniente do banco de germoplasma localizado em Campinas-SP. Foram analisadas lâminas permanentes e semi-permanentes e realizados testes histoquímicos para identificar e localizar as principais classes químicas dos metabólitos presentes nas folhas. Todo o laminário obtido foi analisado em microscópio Olympus BX41 equipado com câmera digital Olympus C7070. As análises da morfologia do indumento foliar foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV), FEI, Quanta 200 (Philips). Quanto à sazonalidade, não houve diferença estatística no rendimento

médio dos óleos essenciais dentro das populações. A população Areia Branca oriunda do município de Carrancas-MG apresentou menor rendimento médio de óleos essenciais em relação às populações Poço Bonito (Lavras-MG) e Serra do Sofá (Itumirim-MG) e, estatisticamente, estas duas últimas populações não apresentaram diferença entre si. O *trans*-cinamato de metila e o *trans*-cariofileno foram às substâncias majoritárias nos óleos essenciais das populações de *L. pinaster*, independente da estação do ano. Os óleos essenciais dos indivíduos apresentaram composição química divergente dentro e entre as populações. As maiores proporções relativas de *trans*-cinamato de metila nos óleos essenciais foram obtidas na coleta do verão e de *trans*-cariofileno na coleta de inverno para todas as populações. Segundo a caracterização da anatomia foliar, a *L. pinaster* apresenta caracteres xeromórficos, relacionados ao seu ambiente natural. Os tricomas glandulares presentes nas folhas apresentam a mesma morfologia em ambas as faces, porém, aparentam diferenças quanto ao desenvolvimento destes tricomas, em função do desenvolvimento foliar. As análises histoquímicas foram positivas em geral para substâncias de natureza lipídica.

Palavras-chaves: *Lychnophora pinaster*, óleo essencial, sazonalidade, anatomia foliar, tricomas.

LEAF ANATOMY AND SEASONAL INFLUENCE ON ESSENTIAL OIL FROM NATIVE POPULATIONS OF *Lychnophora pinaster* Mart. Botucatu, 2012. 93 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Author: MÔNICA TIHO CHISAKI ISOBE

Adviser: MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES

2. SUMMARY

Lychnophora pinaster Mart is one of the microendemic species of the Brazilian Cerrado and it is in the vulnerable category of the Red List of endangered species of the Minas Gerais flora. Widely used in folk medicine, this species suffers the impact of constant non-organized extractivism and degradation of its natural environment. The objective of this research was to evaluate the influence of two harvest seasons (summer and winter) on the yield and chemical composition of the essential oil from native populations of *L. pinaster* and the morphological characterization of the leaves and glandular trichomes, generating relevant information about the potential use of the species. Was sampled three native populations of *L. pinaster*, at Carrancas, Lavras and Itumirim localities in the State of Minas Gerais (Brazil). The essential oil from the leaves of each individual was extracted by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS, Shimadzu QP-5000). To characterize the leaf anatomy, old and young leaves were selected

from a single plant of the Campinas-SP germoplasm bank. We analyzed permanent and semi-permanent slides and histochemical tests were performed to identify and locate the main chemical classes of metabolites present in the leaves. The entire slide collection obtained was analyzed in Olympus BX41 microscope equipped with Olympus C7070 digital camera. The morphological analysis of the leaf indumentum was performed in scanning electron microscope (SEM), FEI Quanta 200 (Philips). The results of seasonality showed no significant difference in the average yield of the essential oil production within populations, but we observed a lower average yield of essential oil in the population from Carrancas. *Trans*-methyl cinnamate and *trans*-caryophyllene were the main substances in the essential oil composition, regardless of the season. The essential oil of the individuals had different chemical composition within and among populations. The highest relative proportions of *trans*-methyl cinnamate in the essential oil were obtained in the summer collection and *trans*-caryophyllene on winter collection for all populations. According to the anatomical characterization of the leaves, *L. pinaster* present xerophytic characters related to its natural environment. The glandular trichomes of the leaves show the same morphology on both sides, however, the development of trichomes appear to vary as a function of the leaf development. The histochemical analyzes were generally positive for substances of lipid nature.

Keywords: *Lychnophora pinaster*, essential oil, seasonal influence, leaf anatomy, trichomes.

3. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais está intimamente ligada à história do homem desde tempos remotos. Segundo Amorozo (2002), o conhecimento popular adquirido ao longo do tempo por sociedades tradicionais, provenientes da observação do ambiente natural habitado por estas populações, ou pelo cultivo de espécies, gera interesse acadêmico acerca destes recursos naturais, levando em consideração a base empírica desenvolvida ao longo dos séculos aliada ao conhecimento científico comprovado.

O estudo de produtos naturais, em especial as plantas medicinais, é importante para o desenvolvimento de pesquisas farmacológicas, na qual 25% dos 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de espécies vegetais (Calixto, 2003).

Todo o potencial de uso medicinal de plantas no Brasil, aparentemente inesgotável, pode ter como grande barreira o extrativismo desordenado de plantas nativas, gerado pelo próprio uso da população e também pela extensa venda destes materiais vegetais, e a degradação do ambiente natural destas, acarretando a perda de potenciais fontes de substâncias terapêuticas.

Esta situação é atual e preocupante, e aliada à falta de informação sobre o manejo e o cultivo destas espécies dificulta qualquer iniciativa de racionalização no uso destes recursos.

Diante desse quadro, a espécie *Lychnophora pinaster*, popularmente conhecida como arnica ou arnica da serra, microendêmica de ocorrência em campos rupestres, fitofisionomia do Cerrado brasileiro do Estado de Minas Gerais (Semir, 1991), está atualmente na categoria vulnerável na lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais (COPAM, 2000).

Esta planta é amplamente utilizada na medicina tradicional, sob a forma de extratos alcoólicos em machucados, contusões, hematomas e picadas de insetos e apresenta atividades anti-inflamatória, analgésica e cicatrizante, (Pinheiro, 2002; Souza, 2003). Outra forma de uso é a de finalidade cosmética, na forma de sabonetes para suavizar a pele (Almeida et al., 1998). A obtenção do material vegetal utilizado popularmente está estritamente relacionada ao extrativismo desordenado, tanto para o próprio uso quanto para a venda, comum nas regiões onde há a presença desta espécie. Outro fator são as queimadas naturais, característica da região de Cerrado, em área onde há populações nativas. Estes fatores associados aceleram o processo de extinção da *L. pinaster*.

Estudo realizado por Oliveira et al. (1996), *in vitro*, do ácido lychnofóico, substância isolada do extrato hexânico de *L. pinaster*, demonstrou inibição de 50% na atividade tripanocida.

Estudo realizado por Silveira et al. (2005a) com o extrato aquoso da parte aérea de *L. pinaster* demonstrou boa atividade tripanomicida, sendo o extrato bruto considerado não tóxico segundo classificação proposta por Meyer et al. (1982).

Poucos estudos estão relacionados com as substâncias voláteis presentes no gênero *Lychnophora*, em vista da importância que estes metabólitos representam para os organismos que os biossintetizam e para o homem. Os óleos essenciais são constituídos por uma mistura de substâncias voláteis do metabolismo especializado, também conhecido como metabolismo secundário, amplamente utilizado pelo homem como aromatizante e por suas atividades terapêuticas, antimicrobiana e antioxidante (Simões e Spitzer, 2003).

Haber (2008) efetuou a caracterização da composição química dos óleos essenciais de folhas e da diversidade genética de três populações nativas de *L. pinaster* coletadas nos municípios de Lavras-MG (Antena e Poço Bonito) e Carrancas-MG (Estrada Real). Para as populações nativas, a substância majoritária foi o *trans*-cinamato de metila

exceto pela população Antena, cuja substância majoritária foi o sesquiterpeno cedr-8(15)-en-9-alfa-ol.

Além disso, Haber (2008) efetuou o cultivo dos mesmos acessos em Botucatu-SP e constatou-se diferenças na composição química do óleo essencial, que diferentemente das amostras de plantas nativas, a substância majoritária foi, para todas as populações, o *trans*-cinamato de metila, assim como Reis et al. (2010) observou em *L. pinaster* cultivada.

A avaliação do cultivo de *L. pinaster* em função da sazonalidade nos estudos realizados por Haber (2008) e Reis et al. (2010) demonstraram diferenças quanto a composição do óleo essencial com diferenças na proporção relativa do *trans*-cinamato de metila. No verão segundo Reis et al. (2010) há maior proporção relativa do componente majoritário (93%) enquanto à menor proporção ocorre na primavera (86,3%), o que difere de Haber (2008) na qual o verão apresentou a menor proporção relativa do *trans*-cinamato de metila (40,19% a 63,07%) em relação ao outono (55,27% a 68,18%).

Assim como o rendimento e a composição química dos óleos essenciais sofrem influência de fatores ambientais, características anatômicas de órgãos reprodutivos e/ou vegetativos podem estar diretamente associadas à adaptação das plantas aos variados ambientes.

Essas adaptações podem maximizar a sua capacidade produtiva garantindo a sobrevivência da espécie, além de cumprirem funções específicas no processo de síntese de metabólitos especializados, o que em plantas medicinais mostra a importância das estruturas como tricomas e canais secretores, uma vez que estes cumprem funções específicas no processo de obtenção dos princípios ativos como, por exemplo, os contidos nos óleos essenciais.

Não foram encontrados, até o momento, estudos referentes à avaliação da composição química dos óleos essenciais de populações naturais de *L. pinaster* em função da sazonalidade. Estas informações são relevantes em vista da importância farmacológica desta espécie, visando padronizar a composição química e garantir a eficácia de futuros produtos oriundos do óleo essencial. Diante deste contexto, surge necessidade de estudos que possam elucidar o rendimento e a composição química dos óleos essenciais das populações nativas de *Lychnophora pinaster* em função das estações do ano cujas informações darão

subsídios para a escolha da melhor época de coleta. Características morfo-anatômicas das folhas, principalmente com relação aos tricomas glandulares podem estar diretamente relacionadas à produção de óleo essencial. Além disso, espera-se que as informações apresentadas possam futuramente contribuir para a identificação botânica da espécie, já que esta pode ser confundida com outras espécies do gênero como, por exemplo, a *Lychnophora ericoides*.

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de duas épocas de colheita (inverno e verão) no rendimento e na composição química dos óleos essenciais de populações nativas de *Lychnophora pinaster* Mart e caracterizar morfológicamente as folhas e os tricomas glandulares, visando disponibilizar informações relevantes para potencial uso da espécie e que possam auxiliar na caracterização botânica da mesma.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. O gênero *Lychnophora* e a espécie *Lychnophora pinaster* Mart.

O gênero *Lychnophora*, pertencente à sub-tribo *Lychnophorineae*, tribo *Vernoniaceae* e à família *Asteraceae*, foi estabelecido por Martius em 1822 e modificado por Springel em 1987, sendo estes autores considerados os primeiros a descrever a presença de pappus interno espiralado, característica de grande importância para os demais trabalhos de caracterização do gênero (Semir, 1991).

Desde então a alocação de espécies e a descrição do gênero passou por inúmeras revisões, com destaque à realizada por Coile e Jones (1981), que em amplo estudo determinaram a presença de 11 espécies no gênero *Lychnophora*. Devido as controvérsias nos métodos utilizados para a nova classificação, estudos com espécies isoladas foram realizados até proposta mais recente.

Por fim, Semir (1991), discordando da classificação proposta por Coile e Jones (1981), realizou grande levantamento das espécies e através de revisões de material botânico proveniente de herbários e vastas observações do comportamento das espécies em seu *habitat* natural estabeleceu o gênero com 68 espécies divididas em seis seções: *Lychnophora*, *Lychnophoriopsis*, *Lychnophorioides*, *Lychnocephaliopsis*, *Sphaeranthus* e *Chronopappus*.

Na seção *Lychnophora*, as espécies *L. pinaster* e *L. ericoides* Mart. possuem muitas semelhanças, pois ambas, principalmente a *L. pinaster*, são bastante polimórficas no porte, diâmetro dos ramos, forma, comprimento e largura das folhas (Figura 1). Dessa forma, segundo Semir (1991), as variantes dessas espécies podem sobrepor caracteres e serem confundidas entre si, sendo essencial desenvolver técnicas que possam facilitar a diferenciação entre elas.



Figura 1: A: *Lychnophora ericoides* proveniente de Capitólio-MG; B: *Lychnophora pinaster* proveniente de Olhos D'Água-MG. (Vieira, 2010)

As plantas de *Lychnophora pinaster* Mart. variam de subarbustos eretos bem ramificados a pequenos arbustos ericoides e, raramente, a arbustos mais altos, variando entre 0,4 a 2,4m e mais raramente até 3,6 m (Figura 2) (Semir, 1991). Suas folhas podem apresentar variações, sendo muito imbricadas e ascendentes na parte superior dos ramos e mais patentes até pouco reflexas abaixo. São geralmente lineares, linearoblongas, rosmarinióides e ericóides e, às vezes longamente lineares em forma de fita, com base de arredondada a auriculada, ligeiramente atenuada, com ápice obtuso a pouco arredondado, raramente pouco agudo, margem revoluta, venação broquidódroma, face adaxial densamente tomentosa canescente com nervura principal subvilosa quando jovem, subglabrescente permanecendo pouco pubérula até totalmente glabra quando velha, geralmente muito rugosa e bulada, às vezes quase lisa, nervura principal alargada afinando da base para o ápice, com indumento subviloso às vezes permanente, nervuras de outras ordens variamente evidentes e impressas, face abaxial totalmente tomentosa com tricomas subvilosos entremeados aos tomentosos, cobrindo todas as nervuras, com a principal subquadrática, não alada, sulcada

longitudinalmente e bem evidente e saliente com geralmente 0,5 a 6,0 cm de comprimento (Semir, 1991)



Figura 2: *Lychnophora pinaster*: **A:** fase jovem e plântulas; **B:** fase adulta. (Isobe, 2011).

A espécie *Lychnophora pinaster* é encontrada em campos rupestres, campos sujos e campos limpos de altitudes elevadas na região de cerrado do Alto Rio Grande em Minas Gerais, podendo também ser encontrada em campos de canga, como os existentes na Serra do Rola Moca, na Serra Moeda e na Serra do Curral, e crescendo entre blocos de rochas ou no alto de pequenos morros como nas Serra do Cipó, Serra do Caraça e Serra de Lavras, na Serra da Bocaina/Morro Janela em Carrancas, na Cachoeira da Fumaça e na Serra de Carrancas (Rodrigues, 1988; Semir, 1991; Haber, 2008).

4.2. Atividade biológica e óleos essenciais de *Lychnophora pinaster*

Dentre os estudos sobre a atividade biológica do gênero *Lychnophora* poucos são sobre a espécie *L. pinaster* ou relacionados à composição química e/ou rendimento do óleo essencial desta espécie, sendo em sua maioria sobre os extratos desta espécie.

Oliveira et al., em experimento *in vitro* observaram a ação tripanomicida de isolados de extratos da parte aérea de *Lychnophora passerina*, *Lychnophora pinaster* e *Lychnophora trichocarpha*. Os constituintes goiasendolidos, presente em *L. passerina* e o eremantolido em *L. trichocarpha* apresentaram 100% de inibição na atividade tripanocida enquanto o ácido lichnofórico presente na *L. pinaster* e o lichnofolido presente em *L. trichocarpha* apresentaram 50% de ação inibitória.

Grael et al. (2000; 2005), Takeara et al. (2003) e Silveira et al. (2005a) observaram a ação tripanomicida de lactonas sesquiterpênicas, flavonóides e ácido cafeíco, em extrato da parte aérea de *Lychnophora granmongolense*, *Lychnophora pohlii*, *Lychnophora staavioides* e *Lychnophora pinaster*. Nas duas primeiras espécies não foi observada a atividade analgésica em testes nociceptivos realizados em camundongos. Para a *L. pinaster*, a dosagem de 113,62 µg/mL de extrato liofilizado utilizado, apesar de apresentar boa atividade tripanomicida, causou lise das células sanguíneas, provavelmente por não ter sido possível isolar as saponinas presentes no extrato. Ainda assim, segundo a classificação proposta por Meyer et al. (1982) para a toxicidade de extratos brutos, o extrato de *L. pinaster* foi considerado não tóxico.

Além dos estudos fitoquímicos anteriormente citados, demais estudos descritos na literatura relatam os compostos isolados do extrato das partes aéreas de *Lychnophora pinaster*, onde consta a presença de ácido cinâmico, ácido cafeíco, pinobanksina e ácido clorogênico (Ferreira et al., 2005) e o isômero de ácido lichnofórico (Silveira et al., 2005b).

Quanto à composição química e rendimento do óleo essencial de *Lychnophora pinaster*, os principais componentes presentes são o *trans*-cinamato de metila e o *trans*-cariofileno segundo Haber (2008) e Reis et al. (2010), exceto para uma população localizada em Lavras-MG, estudada por Haber (2008), cuja substância majoritária foi o cedr-8(15)-en-9-alfa-ol. O rendimento médio do óleo essencial para a *L. pinaster* segundo Reis et al. (2010), em função da sazonalidade, foi de 0,29% (verão); 0,57% (outono); 0,57% (inverno) e 0,51% (primavera) e em plantas com 150 dias de cultivo, sob diferentes tipos de adubação e calagem, o rendimento máximo observado foi de 0,04% sob adubação orgânica com ou sem calagem e na adubação mista sem calagem (Oliveira Júnior et al., 2005). Até o presente

momento estes são os únicos relatos da composição química e rendimento do óleo essencial para esta espécie.

4.3. Influência de fatores ambientais na produção de óleo essencial

Os óleos essenciais são metabólitos secundários amplamente utilizados pelo homem devido ao aroma, atividades terapêuticas, antimicrobiana e antioxidante. Em temperatura ambiente possuem aspecto oleoso, tendo como principal característica a volatilidade. Apresentam-se geralmente incolores ou levemente amarelados, com sabor ácido e picante, pouco estáveis em presença de luz, calor e ar, além de serem pouco solúveis em água (Simões e Spitzer, 2003).

Embora o nível de metabólitos secundários seja controlado geneticamente, a quantidade e a concentração dessas substâncias variam acentuadamente em função das condições ambientais. Apresentam-se como importantes fatores ambientais, a luz (intensidade e fotoperíodo), a latitude, a temperatura (mínima e máxima), o solo (propriedades químicas e físicas) e a disponibilidade hídrica e de nutrientes. Esses fatores apresentam respostas diferenciadas nas diversas espécies estudadas, devendo-se considerar as condições ambientais ótimas para a máxima produção de cada espécie (Ventrella, 2000).

O termo qualidade para uma planta medicinal transcende os limites da aparência e abundância da massa vegetal obtida. É preciso ir além, focando este conceito com base na concentração dos princípios ativos presentes na massa vegetal. Isso porque a síntese desses princípios ativos pode ser alterada conforme as técnicas de cultivo (Oliveira Júnior et al., 2005).

De acordo com Ventrella (2000), a produção de biomassa e de metabólitos secundários está estreitamente relacionada com aspectos agrônômicos como o preparo do solo, época de plantio, fertilização, irrigação, espaçamento, reguladores vegetais, tratamento de sementes e técnicas de colheita e pós-colheita.

A influência de alguns desses fatores foi observado por Ventrella (2000), em cultivo de *Lippia alba* em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita, em que se observou variações no rendimento dos óleos essenciais, obtendo rendimento

máximo de 0,35% no cultivo a pleno sol com colheita em janeiro e mínimo de 0,10% no cultivo a 70% de sombreamento com colheita em julho e 0,11% em outubro.

Neste mesmo estudo, observou-se que a síntese do óxido de cariofileno, do *trans*-cariofileno e do linalol no óleo essencial estiveram mais relacionadas com condições de maior sombreamento, menor disponibilidade hídrica, temperatura e radiação solar global relativamente baixas, que caracterizam os meses que antecedem a colheita de outubro e de julho. Por outro lado, a síntese do neral e do geranial parece estar mais relacionada com condições de boa luminosidade, boa disponibilidade hídrica, temperatura e radiação solar global mais altas, que caracterizam os meses que antecedem a colheita de janeiro e de abril.

Reis et al. (2010), constataram para plantas cultivadas de *L. pinaster*, variação no rendimento de óleo essencial quando estas foram colhidas em diferentes épocas do ano e mudanças quanto à proporção relativa da substância majoritária, o *trans*-cinamato de metila na qual a menor proporção foi na primavera (86,3 %) e a maior no verão (93 %).

Haber (2008), em análise da influência da sazonalidade na composição química dos óleos essenciais de plantas cultivadas de *L. pinaster*, observou que de modo geral, o outono foi à estação onde a proporção relativa de *trans*-cinamato de metila foi maior, variando entre 55,27% a 68,18% e o verão a menor (40,19% a 63,07%). A média da proporção relativa do *trans*-cinamato de metila para as plantas cultivadas, em todas as colheitas, foi inferior a média observada nas populações nativas (71,94%), com exceção da população Antena, onde a substância majoritária foi o cedr-8(15)-en-9-alfa-ol com 27,85% e o *trans*-cinamato de metila 12,56%.

Em estudo efetuado por Morais (2003) e Morais et al. (2002) para *Ocimum selloi* a queda de temperatura e as diminuições da insolação e da pluviosidade reduziram o crescimento foliar, bem como o rendimento de óleo essencial, possivelmente por estes fatores estarem relacionados com a redução da atividade enzimática e fotossintética.

Nesse mesmo estudo, a sazonalidade também influenciou a composição química do óleo essencial, sendo maiores as proporções relativas das substâncias presente no óleo essencial na colheita de inverno (junho) em relação à de verão (janeiro) para o *trans*-cariofileno (0,80% para 1,83%), β -selineno (0,93% para 4,14%) e germacreno-D (0,94% para 4,21%).

4.4. Aspectos agronômicos de *Lychnophora pinaster*

Quanto aos aspectos agronômicos, a *Lychnophora pinaster* possui um comportamento fenológico sazonal com relação aos seus aspectos vegetativos, reprodutivos e dispersão de frutos, em função das variações climáticas (Silva, 1994).

Segundo Melo (2005) o efeito da temperatura afeta a germinação de aquênios de arnica em função do estágio de coleta, em que aquênios maduros germinam a uma maior velocidade e taxa sob temperatura alternada de 20°C-30°C, respondendo a incidência de luz, apresentando tendência ao fotoblastismo positivo, principalmente sob temperaturas contínuas. Já na ausência de luz, sob temperatura de 20°C-30°C, a germinação é maior, independente do estágio de maturação, o que evidencia a contribuição da alternância de temperatura para a quebra de dormência de aquênios de arnica.

Além da sua reprodução via sementes, Souza (2003) demonstrou que a cultura de tecidos é altamente segura na produção de plântulas desta espécie, tendo obtido plantas com qualidade, e mantido a anatomia característica das plântulas. Ainda em se tratando da reprodução vegetativa, Paron et al. (2003) observou que manter estacas de *L. pinaster* em concentração de 300 mg/L⁻¹, de ácido indol-butírico em solução aquosa, por 24 horas seria a ideal, já Haber (2008) utilizou a concentração de 200 mg/L⁻¹ pelo mesmo período de tempo, obtendo sucesso na formação de mudas desta espécie.

A *L. pinaster* é adaptada a solos com altos teores e saturação de alumínio (Al) e não são acumuladoras desse elemento, o que não afeta o crescimento do sistema radicular desta planta. O xeromorfismo está relacionado à saturação de Al dos solos e, sendo uma das funções ecológicas dos óleos essenciais à proteção da planta contra perda d'água e a presença de Al pode inibir, por competição a absorção de Mg pelas plantas, prejudicando a formação de Mg-PPI e, conseqüentemente, aumentando a produção de óleo essencial pela planta (Oliveira Júnior et al., 2005).

A alta saturação de Al no solo é uma condição característica para plantas nativas do Cerrado, porém estudos mais detalhados sobre a influência e adequação da dosagem da adubação e calagem na composição química desta planta devem ser realizados tendo em vista a produção de fitoterápicos. (Oliveira Júnior et al., 2005; Oliveira Júnior et al., 2006).

Estudos realizados com mudas *L. pinaster* provenientes de cultivo *in vitro* e, mantidas em casa de vegetação por 150 dias, envolvendo nutrição mineral com adubação orgânica (esterco de curral) associada à complementação de fertilizantes químicos apresentou uma melhor relação entre o teor (%) e o rendimento (mg de óleo essencial/planta) de óleo essencial, em relação à plantas tratadas somente com adubo orgânico ou mineral (Oliveira Júnior et al., 2006). Há também interação entre a presença ou não de calagem na produção de óleo essencial, onde a presença de calcário, com o aumento do pH, levou a um aumento na atividade microbiológica e à mineralização do adubo orgânico, levando ao incremento na produção de massa seca da parte aérea, porém, com menor produção de óleo essencial em função da calagem (Oliveira Júnior et al., 2005; Oliveira Júnior et al., 2006).

4.5. Anatomia vegetal

A anatomia é uma área de fundamental importância para qualquer estudo na área vegetal, pois a estrutura da planta e seus mecanismos de defesa são as ferramentas que delimitam a sobrevivência da espécie em seu *habitat*.

Sob o ponto de vista adaptativo, a especialização de caracteres anatômicos garante a sobrevivência de determinadas espécies à ambientes que podem ser considerados desfavoráveis, como as características xeromórficas encontradas no gênero *Lychnophora* presente no Cerrado (Luque et al., 1999).

Além dos aspectos adaptativos em plantas nativas, a planta quando submetida a qualquer prática de manejo aplicado deve receber atenção, pois o corpo do vegetal está dinamicamente relacionado ao ambiente em que se encontra. Como exemplos dessas interações pode-se citar a quantidade de radiação e fotoperíodo os quais causam influência na estrutura anatômica das folhas, alterando espessura de parênquima, cutícula, aumento ou diminuição do número de estômatos, espaçamento entre células, entre outros (Silva et al., 2005; Ventrella, 2000).

Os aspectos histológicos, tais como presença e ausência de tricomas, tamanho e forma dos mesmos, ocorrência e posição das células, a organização das células epidérmicas, orientação das nervuras, tipos de estômatos, entre outros fatores, podem ser utilizados na identificação de espécies no geral (Silva et al., 2005).

Nos estudos de anatomia foliar do gênero *Lychnophora*, esta é descrita com folhas revolutas, apresentam indumento abundante, parede periclinal externa das células epidérmicas e cutículas grossas, estômatos localizados somente na superfície abaxial e mesófilo compactado, características consideradas como tipicamente xerofíticas (Luque et al., 1999). Outros caracteres anatômicos associados à redução de perda de água em espécies do gênero *Lychnophora* são a disposição imbricada das folhas e redução da superfície foliar (Semir, 1991).

No gênero os tricomas podem ser glandulares, constituídos de um pé bisseriado e uma cabeça bicelular, ou tricomas tectores simples ou estrelados, constituídos por uma célula epidérmica basal, uma ou duas intermediárias e uma terminal de parede lignificada (Luque et al., 1999). Os tricomas nas folhas e inflorescências podem estar relacionados à proteção contra a perda d'água e aumento de temperatura, além de serem os principais órgãos de estocagem de óleo essencial, metabólitos que podem estar ligados à como agente de sinalização química, atraindo ou repelindo os animais (Souza, 2003).

Levando em consideração as estruturas secretoras, estas variam amplamente em sua morfologia e anatomia, e podem representar um importante caráter taxonômico devido, especialmente, à posição constante que ocupam nas espécies e variedades em que ocorrem (Fahn, 1988).

As estruturas secretoras estão relacionadas a fatores genéticos e ambientais, além disso, seu tipo e frequência podem também estar relacionados com a quantidade e a qualidade de substância produzida por determinada espécie. Neste sentido, através de estudos com microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão, aliados à testes fitoquímicos e histoquímicos, pode-se associar a composição química de metabólitos especializados e anatomia foliar (Ventrella, 2000).

Os tricomas glandulares, além de diversas estruturas secretoras, são importantes na produção de diversos metabólitos especializados de interesse farmacêuticos. Segundo Gonçalves e Lorenzi (2007), o tricoma em geral, não somente os glandulares, sendo estes os que atuam na produção e armazenamento de metabólitos especializados, é uma célula ou um conjunto de células diferenciadas da epiderme que usualmente projetam-se, como se fossem pêlos. São apêndices de origem epidérmica que apresentam diversas formas, estruturas

e funções podendo ser classificados de diversas formas: unicelulares ou pluricelulares, simples ou compostos, secretores ou não secretores.

Os tricomas secretores são formados por uma porção que se insere entre as outras células epidérmicas, chamada de base, e um segmento que se encontra acima da superfície da epiderme, chamado de corpo. O corpo do tricoma é representado por um pedicelo, que é a porção que eleva as células secretoras que pode ou não estar presente, podendo ser formado por uma a muitas células; uma célula colar que conecta a cabeça com o pedicelo que também pode ou não estar presente; e uma cabeça, que é a porção apical secretora (Gonzalez e Arbo, 2004).

Estes tricomas são muito importantes ecologicamente, pois participam na regulação de temperatura, aumento da reflexão de luz, diminuição da perda de água, secreção de íons e poluentes, redução na movimentação de insetos na planta, proteção contra fungos e bactérias, atração de polinizadores e efeitos alelopáticos (Wagner et al., 2004).

Os tricomas secretores produzem uma variedade de substâncias do metabolismo secundário, como taninos, mucilagem, substâncias resinosas, óleos essenciais e as características peculiares das células que as produzem variam de acordo com as substâncias produzidas (Fahn, 1988).

Após a produção, a secreção é eliminada e a cutícula se destaca, formando um amplo espaço subcuticular, no qual a secreção é acumulada. Na maioria das espécies, para a eliminação da secreção, ocorre a ruptura da cutícula em uma linha pré-determinada geneticamente. Em alguns casos, esta linha não existe e a secreção é eliminada por meio de poros existentes na cutícula (Fahn, 1988).

Werker et al. (1993), observou em *Ocimum basilicum* tricomas secretores peltados e capitados, segundo os autores, nos tricomas secretores peltados a secreção é acumulada no espaço subcuticular formado entre a parede das células da cabeça e a cutícula, enquanto que nos tricomas secretores capitados este espaço é reduzido ou inexistente. Através dos testes histoquímicos foram detectadas substâncias lipídicas e polissacarídeos no material acumulado no espaço subcuticular. Os autores verificaram que a densidade de tricomas foi maior em folhas jovens e em regiões meristemáticas. Na medida em que a folha se expande, a densidade de tricomas decresce, pois novos tricomas param de ser produzidos.

Caracterizando também estruturas secretoras, Santos et al. (2004) avaliou em *Lippia alba* o efeito dos diferentes horários de colheita na composição de seu óleo essencial e a quantidade deste nas estações seca e chuvosa. Os autores observaram três tipos de tricomas secretores de substâncias lipídicas, evidenciadas com Sudan IV. O primeiro apresentou uma célula basal, um pedicelo alongado bicelular e uma porção capitada bicelular; o segundo apresentou uma célula basal, uma célula intermediária e uma porção capitada bicelular e, o terceiro tipo, uma célula basal estreita e uma porção capitada globosa. Os resultados de Santos et al. (2004) mostraram que a obtenção de óleo essencial na estação seca foi superior à chuvosa e que as substâncias que compõem o óleo essencial variaram de acordo com as variações ambientais.

Outros aspectos anatômicos nas plantas podem sofrer modificações conforme a variação ambiental. Ventrella (2000), em plantas de *Lippia alba* cultivadas sob diferentes níveis de sombreamento, observou uma grande plasticidade nos tratamentos, onde plantas cultivadas a pleno sol colhidas em janeiro e abril apresentaram maiores porcentagens da extensão da bainha do feixe vascular, o que facilitaria a radiação solar incidente. Porém, quando cultivadas a pleno sol, mas colhidas em outubro e julho desenvolveram menor proporção de extensão da bainha do feixe, reforçando o efeito da época de colheita e não somente os níveis de sombreamento.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Coleta do material vegetal

Foram coletadas plantas de três populações de *L. pinaster* localizadas no Estado de Minas Gerais. A primeira população, denominada de Poço Bonito, encontra-se no município de Lavras (21° 20' 02.1"S 44° 58' 22.11"W, entre 1035 m e 1051 m de altitude), e foram amostrados 17 indivíduos.

A segunda população, denominada de Serra do Sofá, localiza-se no município de Itumirim (21° 21' 28.7"S 45° 51' 30.9"W, entre 919 m e 967 m de altitude) e a terceira população, denominada Areia Branca, localizada no município de Carrancas (21° 27' 26.0"S 44° 35' 50.3"W, entre 1135 m e 1150 m de altitude), sendo amostrados 29 e 26 indivíduos por população, respectivamente.

As coletas foram realizadas na sequência: Poço Bonito – Serra do Sofá – Areia Branca, geralmente nos horários entre 9:00 horas às 17:00 horas. Segue abaixo, na Tabela 1, as distâncias médias entre os locais de coleta.

Tabela 1: Quadro com as distâncias médias percorridas entre os locais de coleta, em quilômetros.

<i>Em km</i>	Campinas-SP	Lavras-MG	Itumirim-MG	Carrancas-MG
Campinas-SP	-	374,0	391,0	434,0
Lavras-MG	374,0	-	18,5	61,5
Itumirim-MG	391,0	18,5	-	43,0
Carrancas-MG	434,0	61,5	43,0	-

Estas cidades estão localizadas no bioma cerrado, de clima tropical chuvoso (verão quente, inverno seco), segundo Köppen Aw (Cwa) (Ribeiro e Walter, 1998).

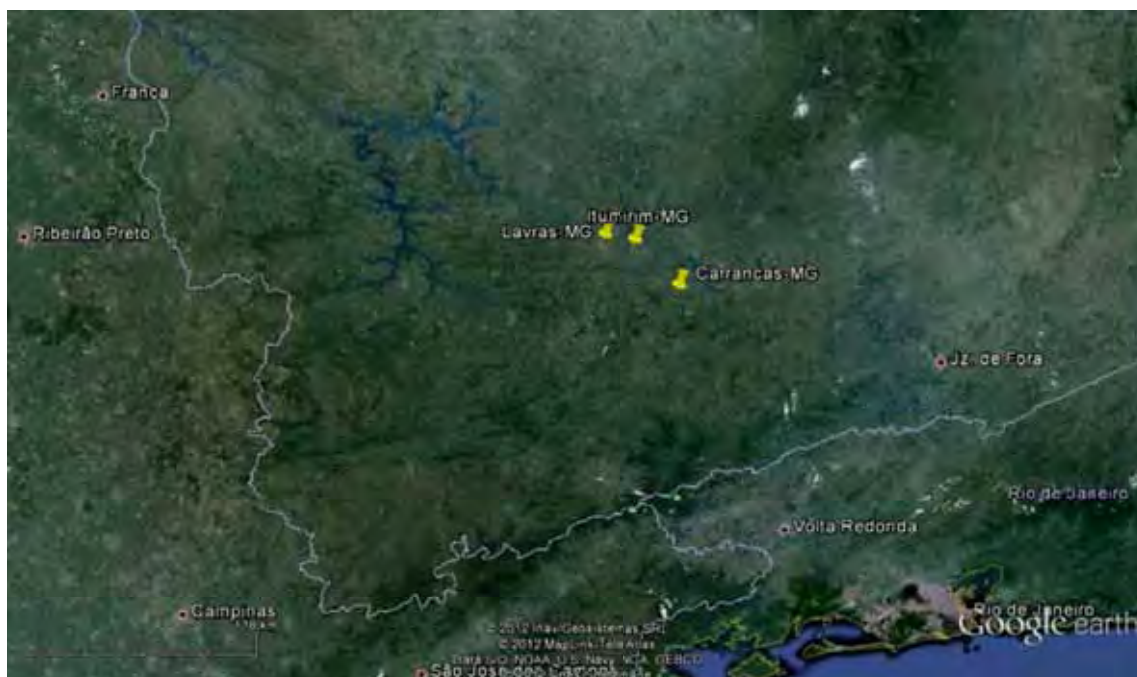


Figura 3: Mapa da região de coleta (Fonte: Google Earth, 2012).

As coletas foram realizadas em dois períodos do ano em função do clima, sendo a primeira coleta realizada nos dias 12 e 13 do mês de julho de 2011, período com temperatura mais amenas, correspondente ao inverno, e a segunda coleta nos dias 05 e 06 do mês de dezembro de 2011, com uma elevação da temperatura decorrente do verão.

Segundo o Instituto Nacional de Meteorologia, em todos os locais de coleta, em julho a temperatura média compensada foi em torno de 12°C a 14°C, com máxima

de 23°C a 25°C e mínimas de 6°C a 8°C, precipitação média mensal de 10 a 20 mm em julho e a umidade relativa do ar entre 70-75%. Em dezembro a temperatura média compensada foi em torno de 20°C e 22°C, com máxima de 25°C a 27°C e mínimas de 16°C a 18°C, precipitação média mensal de 260 a 300 mm e a umidade relativa do ar entre 80-85%.

Ainda segundo dados obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia, a insolação total em horas no mês de julho foi de 220-240 horas totais, para os três locais de coleta e no mês de dezembro para as cidades de Lavras-MG e Itumirim-MG foi de 160-180 horas totais e na cidade de Carrancas-MG foi de 140-160 hora totais.

O solo da região é caracterizada por latossolos, podzolicos na região de Lavras-MG e Itumirim-MG e latossolos e areia quartzosa na região de Carrancas-MG (Embrapa, 2012).

Cada indivíduo recebeu um código identificado em placas plásticas amarradas a cada planta, além de coletadas informações referentes ao posicionamento na área amostrada, por meio de GPS (*Global Positioning System*) e o estágio de desenvolvimento.

A coleta do material consistia na coleta de ramos, para posterior processamento, de cada indivíduo para a análise da composição e rendimento do óleo essencial. Na primeira coleta, em cada população foi coletado material botânico fértil para a confecção de exsicatas, as quais foram posteriormente identificadas pelo Prof. Dr. João Semir, docente do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Os materiais foram depositados no acervo do Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC), nas seguintes populações sob os números 167209 (População Poço Bonito – Lavras/MG), 167211, 167210, 167201 (População Serra do Sofá – Itumirim/MG), 167208, 167207, 167206, 167205, 167204 e 167203 (População Areia Branca – Carrancas/MG).

Para caracterização do local de coleta e das populações estudadas foram coletados dados de localização geográfica (altitude, latitude e longitude) através de GPS, e dados específicos sobre o local e as plantas.

5.2. Extração e análise da composição química do óleo essencial

A extração e análise da composição química do óleo essencial de *L. pinaster* foram realizadas no Laboratório de Produtos Naturais, do Centro de Pesquisa e

Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agronômico de Campinas, Campinas-SP. Para isso, foram separadas as folhas manualmente dos caules e flores, de cada indivíduo após a coleta, e armazenadas em sacos de papel previamente identificados, e colocados sobre a bancada para secagem ao ar livre em temperatura ambiente devido ao grande número de indivíduos amostrados.

A extração dos óleos essenciais das folhas foi feita por hidrodestilação, em aparato Clevenger, por duas horas e meia, e armazenados em frascos transparentes identificados e mantidos em freezer a 4°C. A análise quantitativa da composição química foi realizada por meio de cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (CG-DIC, Shimadzu, GC-2010/AOC-20i), dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), hélio como gás de arraste, vazão de 1,0 mL min⁻¹, injetor a 240°C, detector a 230°C, split 1/20 e o seguinte programa de temperatura: 60°C-180°C, 3°C min⁻¹; 180°C-240°C; 10°C min⁻¹. A análise qualitativa da composição química dos óleos essenciais foi conduzida em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM, Shimadzu, QP-5000), operando a 70 eV, dotado de coluna capilar de sílica fundida OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), hélio como gás de arraste (1,0 mL min⁻¹), split: 1/20, injetor a 240°C, detector a 230°C e o seguinte programa de temperatura: 60°C-240°C, 3°C min⁻¹.

A identificação dos constituintes químicos foi efetuada por meio da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62.lib), literatura e índice de retenção das substâncias com os obtidos por meio da injeção de uma serie homóloga de *n*-alcanos no programa de temperatura anteriormente descrito, aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (Van den Dool e Kratz, 1963; Adams, 2007).

5.3. Anatomia foliar

Para a caracterização da anatomia foliar de *L. pinaster* foram selecionadas folhas adultas, em seu tamanho total com o limbo completamente expandido, de aspecto coreáceo e localizadas na região basal e média das ramificações, e também foram selecionadas folhas jovens, sendo estas folhas em desenvolvimento, ou seja, não atingiram total expansão foliar, de aspecto tenro e localizada no ápice das ramificações. Estas amostras

são provenientes de um indivíduo do banco de germoplasma localizado no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas-SP.

As amostras foram fixadas em FAA 50 (formaldeído + ácido acético glacial + álcool etílico 50%) (Johansen, 1940), levadas ao Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizada na cidade de Botucatu-SP, e posteriormente desidratada em séries etílicas até etanol 100%, seccionadas em fragmentos menores e infiltradas em resina plástica (Leica Historesin) para obtenção de blocos. Estes blocos foram seccionados (5-10 μ m de espessura) em micrótomo rotativo e as secções coradas em azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (O’Brien et al., 1964). A montagem das lâminas histológicas foi feita entre lâmina e lamínulas com resina sintética Entelan. Para a confecção de lâminas semi-permanentes, amostras de material fixados foram seccionados à mão livre ou em micrótomo de Ranvier, as secções obtidas foram submetidas à coloração com Safrablau (Dop e Gautié, 1928), e montadas entre lâminas e lamínulas com glicerina 40%.

Para identificar e localizar as principais classes químicas dos metabólitos presentes nas folhas, as secções obtidas à partir de material fixado e/ou incluído em resina plástica, foram submetidas aos seguintes reagentes: Sudan IV para lipídios totais (Jensen, 1962), Reagente de Nadi para óleos essenciais (David e Carde, 1964), solução de cloreto férrico 10% para compostos fenólicos (Johansen, 1940), Lugol para amido (Johansen, 1940), ácido periódico/reagente de Schiff (PAS) para polissacarídeos neutros (McManus, 1948), solução de vermelho de Rutênio 0,02% para pectinas (Johansen, 1940), Solução de Azul Mercúrio de Bromofenol para proteínas (Mazia et al., 1953), Ácido Tânico/Cloreto de Ferro III para mucilagens (Pizzolato e Lillie, 1973), Solução de Fehling para açúcares (McLean e Ivimey-Cook, 1958), Acetato de Cobre para resina (Johansen, 1940).

Todo o laminário obtido foi analisado em microscópio Olympus BX41 equipado com câmera digital Olympus C7070.

As análises da morfologia do indumento foliar foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV), FEI, Quanta 200 (Philips), no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, Campus Botucatu-SP. Para isso, amostras de folhas em diferentes fases do

desenvolvimento foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato 0,1 M pH 7,3 por 24 horas, pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% por 2 horas, desidratadas em série crescente de solução alcoólica, submetidas a secagem em ponto crítico, metalizadas com ouro (MED 010 da Balzers Union) (Robards, 1978) e analisadas ao microscópio eletrônico de varredura Quanta 200 (Philips). As imagens foram capturadas com câmara digital acoplada ao MEV.

5.4. Análise estatística

Os dados de composição química foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) com auxílio do programa estatístico GENES. Os dados foram submetidos à Análise dos Componentes Principais (ACP) de acordo com o descrito por Beebe et al. (1998) com auxílio do programa estatístico XLSTAT 2012.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Avaliação do rendimento e da composição química média dos óleos essenciais das populações de *L. pinaster*

Para análise do rendimento e da composição química do óleo essencial de folhas de *Lychnophora pinaster* foram consideradas as populações Poço Bonito (Pbo), Serra do Sofá (Sso) e Areia Branca (Abr), oriundas dos municípios de Lavras, Itumirim e Carrancas, Estado de Minas Gerais.

O rendimento dos óleos essenciais dos indivíduos por população encontra-se demonstrado no apêndice (Tabela 7). Na análise do rendimento médio de óleo essencial dentro das populações, não foi observada diferença estatística para as coletas de inverno e verão (Tabela 2). Na comparação entre as populações, a de Areia Branca é estatisticamente diferente das demais apresentando redução no rendimento de óleo essencial de 54,95% em relação à de Poço Bonito e 39,75% para a Serra do Sofá na coleta de inverno e 53,26% (Pbo) e 62,60% (Sso) na coleta de verão.

Tabela 2: Rendimento médio (%) de óleo essencial de *L. pinaster*, de três populações, coletadas no inverno e no verão de 2011, Minas Gerais.

Poço Bonito (Pbo)		Serra do Sofá (Sso)		Areia Branca (Abr)	
Coleta	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta	Coleta
inverno	verão	inverno	verão	inverno	verão
1,11 a	0,92 a	0,83 ab	1,15 a	0,50 bc	0,43 c

- Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apesar de não apresentarem diferenças estatísticas dentro das populações, as populações Poço Bonito (Lavras-MG) e Areia Branca (Carrancas-MG) apresentaram ligeira redução no rendimento médio na coleta do verão em relação ao inverno (17% e 14%, respectivamente). Este fato também foi observado por Reis et al. (2010), em plantas cultivadas, cujo rendimento no verão foi de 0,29% e 0,57% no inverno, tendo uma redução mais significativa (49,12%) do que a observada neste trabalho.

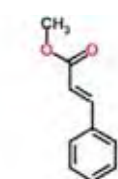
Segundo Curado et al. (2006) a dinâmica sazonal do rendimento de óleo essencial para *Lychnophora ericoides* está relacionado à períodos de seca, ocorrendo um menor rendimento nesta época. O inverno nas regiões do cerrado é caracterizado pela diminuição da umidade em relação ao verão que é considerado úmido.

Além dos fatores ambientais é provável que o rendimento dos óleos essenciais esteja relacionado ao desenvolvimento da planta, dependendo do estágio fenológico em que se encontra como no caso da espécie *Juniperus excelsa* onde o rendimento apresenta uma menor concentração no verão em relação ao outono para as folhas e bagas. Para as bagas a redução no rendimento não está ligada somente a fatores edafoclimáticos, mas também ao ciclo de amadurecimento (Shanjani et al., 2010). Em *L. pinaster* o rendimento dos óleos essenciais para mudas cultivadas analisadas por Oliveira Júnior et al. (2005) foi inferior aos resultados com plantas adultas, sendo o maior rendimento obtido de 0,04%.

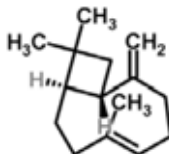
Para a caracterização da composição química do óleo essencial de cada população foram analisadas estatisticamente as substâncias identificadas com proporção relativa acima de 1%, e os resultados das possíveis diferenças sazonais são apresentados a seguir.

No total, foram identificadas 23 substâncias nos óleos essenciais, as substâncias majoritárias para todas as populações foram o *trans*-cinamato de metila, o *trans*-cariofileno e o α -humuleno, a primeira substância pertencente à classe dos fenilpropanóides e as duas últimas aos sesquiterpenos (Figura 4).

cinamato de metila
(C₁₀H₁₀O₂)



***trans*-cariofileno**
(C₁₅H₂₄)



α -humuleno
(C₁₅H₂₄)

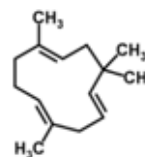


Figura 4: Estruturas químicas das substâncias majoritárias dos óleos essenciais de *Lychnophora pinaster* Mart.

O *trans*-cinamato de metila foi a substância mais abundante variando de 61,27% (População Areia Branca, coleta de inverno) a 80,86% (População Poço Bonito, coleta de verão), conforme demonstrado na Tabela 3.

Houve diferença estatística quanto à proporção relativa média das substâncias entre as populações Poço Bonito, Serra do Sofá e Areia Branca, e também no que concerne a sazonalidade.

Tabela 3: Substâncias majoritárias (% relativa média) dos óleos essenciais de folhas das três populações de *L. pinaster*, coletadas no inverno e no verão de 2011, Minas Gerais.

Substância	População					
	Poço Bonito	Serra do Sofá	Areia Branca	Poço Bonito	Serra do Sofá	Areia Branca/
	/MG	/MG	/MG	/MG	/MG	MG
	1ª Coleta – Inverno			2ª Coleta – Verão		
triciclono	0,77 ab	1,13 a	0,41 b	0,48 ab	0,93 ab	0,43 b
β -pineno	1,24 ab	1,53 a	0,61 b	0,73 ab	1,19 ab	0,58 b
<i>trans</i> -cinamato de metila	70,08 bc	63,19 cd	61,27 d	80,86 a	73,03 b	66,13 cd
<i>trans</i> -cariofileno	18,85 ab	22,92 a	20,64 a	10,35 c	15,32 b	15,40 b
α -humuleno	5,33 bc	6,83 a	5,87 ab	3,15 d	4,56 cd	4,53 cd

• Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Poço Bonito (Lavras-MG); Serra do Sofá (Itumirim-MG); Areia Branca (Carrancas-MG).

Quanto aos compostos majoritários houve tendência no aumento da proporção relativa do *trans*-cinamato de metila e diminuição para o *trans*-cariofileno e o α -humuleno na coleta realizada no verão em relação à coleta realizada no inverno. A taxa de aumento observada foi de 7,93% na população Areia Branca e de 15,38 % e 15,57%, para as populações Poço Bonito e Serra do Sofá quanto ao *trans*-cinamato de metila. Para o *trans*-cariofileno e o α -humuleno a taxa de redução foi respectivamente de 45,09% e 40,90% na população Poço Bonito, 33,15% e 33,23% na população Serra do Sofá e 25,38% e 22,82% na população Areia Branca.

No presente estudo não foi observada a presença do sesquiterpeno cedr-8-(15)-en-9-alfa-ol nas populações estudadas (Poço Bonito, Serra do Sofá, Areia Branca) como o descrito por Haber para a mesma espécie (2008).

Haber (2008) observou o incremento da proporção relativa da substância *trans*-cinamato de metila do estágio vegetativo para o reprodutivo em populações nativas de *L. pinaster*. O mesmo fato foi observado nas populações relacionadas neste estudo, onde na primeira coleta realizada no período de inverno seco (Julho) grande parte dos indivíduos se encontravam em fase vegetativa [*trans*-cinamato de metila: 70,08% (Poço Bonito); 63,19% (Serra do Sofá); 61,27% (Areia Branca)] e na segunda coleta realizada em dezembro, período de verão úmido, as mesmas populações estavam no final do período reprodutivo [*trans*-cinamato de metila: 80,86% (Poço Bonito); 73,03% (Serra do Sofá); 66,13% (Areia Branca)].

Estes metabólitos são influenciados pelo aspecto genético, assim como ao ambiente onde se encontram. Terpenóides voláteis e não voláteis e fenilpropanóides são reconhecidos por agirem na atração de insetos polinizadores e predadores de herbívoros, na proteção contra o estresse fotooxidativo, implicando em uma termotolerância da planta, atuando na defesa contra microorganismos e insetos, ou causando efeitos alelopáticos em outras plantas (Paolini et al., 2010; Vogt, 2010).

Segundo Haber (2008), quando os genótipos das populações nativas de *L. pinaster* foram cultivados em Botucatu-SP, oriundos da população Antena (Lavras-MG), a substância *trans*-cinamato de metila do óleo essencial, apresentou maior proporção relativa na colheita realizada no outono (63,48%) em relação à colheita realizada no inverno (57,05%) e

no verão (41,77%), e também quando comparada à composição do óleo essencial das plantas nativas, cuja proporção relativa foi 12,46%.

A população Antena (Lavras-MG) foi à única na qual a proporção relativa do *trans*-cinamato de metila foi menor para as plantas nativas em relação às cultivadas. Para outra população denominada Poço Bonito, também da cidade de Lavras-MG, na substância *trans*-cinamato de metila houve um incremento da proporção relativa na colheita de inverno (72,44%) em relação às colheitas realizadas no outono (68,18%) e no verão (63,07%), e proporção relativa menor quando comparada a espécies nativas (79,74%) (Haber, 2008).

A população Poço Bonito, presente neste estudo é uma população próxima à região de ocorrência da população estudada por Haber (2008). Na atual população Poço Bonito, a proporção relativa do *trans*-cinamato de metila para a coleta realizada no inverno (70,08%) é semelhante à colheita realizada neste mesmo período em *L. pinaster* cultivada por Haber (2008). Nesta mesma população, para a coleta realizada no verão, a proporção relativa do *trans*-cinamato de metila (80,86%) foi maior em relação às plantas cultivadas por Haber (2008), citadas anteriormente.

Segundo Haber (2008), na população Estrada Real e Estrada Real 1, ambas provenientes de Carrancas-MG, o *trans*-cinamato de metila apresentou maior proporção relativa no óleo essencial obtido na colheita de outono [Estrada Real (55,27%) e Estrada Real1 (59,45%)] e inverno para a população Estrada Real 1 (59,37%) em relação à colheita de inverno da População Estrada Real (46,02%).

Já na colheita realizada no verão para ambas populações (Estrada Real (40,19%) e Estrada Real 1 (43,49%)) as proporções relativas foram menor quando relacionadas às plantas nativas (Estrada Real (59,09%) e Estrada Real 1 (77,01%)) (Haber, 2008).

A população Areia Branca, também esta localizada na cidade de Carrancas-MG. Para a coleta realizada no inverno, a proporção relativa do *trans*-cinamato de metila (61,27%) foi semelhante ao observado por Haber (2008) para os óleos essenciais das plantas da população Estrada Real 1 (59,37%) cultivada em Botucatu e maior que a Estrada Real (46,02%). Para a coleta de verão, a proporção relativa da referida substância nos óleos essenciais foi em média 66,13%, sendo maior que as populações cultivadas descritas por

Haber (2008) para a mesma época de colheita [(Estrada Real (40,19%) e Estrada Real 1 (43,49%)].

Variações na proporção relativa do *trans*-cinamato de metila, também foram observadas nos óleos essenciais de *L. pinaster*, cultivada na cidade de Lavras-MG, por Reis et al. (2010), e colhidas em quatro estações do ano, onde a menor proporção relativa foi obtida no período da primavera (86,3 %) e a maior no verão (93%).

O *trans*-cinamato de metila é um fenilpropanóide, oriundo da via chiquimato. A resposta de cada gene individual para a rota do chiquimato pode variar conforme a intensidade luminosa ou fatores nutricionais, estando estreitamente regulada e sendo mais complexa que as respostas transcricionais dos genes em seu total na biossíntese de fenilpropanóides (Vogt, 2010).

Sob o aspecto econômico, o *trans*-cinamato de metila pode impedir a perda da qualidade de alimentos como frutas e vegetais, inibindo a atividade da tirosinase, que causa o escurecimento por oxidação enzimática. Além de atuar na inibição da atividade da monofenolase e difenolase da tirosinase, o *trans*-cinamato de metila apresenta atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *B. subtilis*, *St. Aureus* e *C. albicans* (Huang et al., 2009).

Segundo Huang et al. (2009), o *trans*-cinamato de metila vem sendo amplamente utilizado pela indústria cosmética e perfumaria como ingrediente aromático, não apresentando sinais de toxicidade, o que não impediria o uso de tal substância na indústria alimentícia.

O *trans*-cariofileno é amplamente utilizado na indústria cosmética pelo aroma que possui, além de apresentar atividade biológica antibacteriana e antifúngica, e propriedades farmacológicas, agindo, por exemplo, como anti-inflamatório (Silva, 2010).

O α -humuleno também apresenta atividade antibacteriana e antifúngica, além de atividades anti-inflamatória e antitumoral. O uso mais reconhecido desta substância, associada ao *trans*-cariofileno, é como princípio ativo do fitomedicamento que tem em sua constituição óleo essencial de *Cordia verbenacea*, utilizado no tratamento de afecções cuja processo inflamatório esteja presente (Schmidt e Lianza, 2010; Tamayo et al., 2008).

6.2. Composição química dos óleos essenciais de *L. pinaster* por população

Para a análise da composição química dos óleos essenciais dos indivíduos por população, nos testes estatísticos de média, foram selecionadas as substâncias identificadas acima de 1% em pelo menos um dos indivíduos dentro da mesma população. Para a análise de componentes principais (ACP), foram selecionadas sete substâncias identificadas (α -humuleno, β -pineno, *cis*-cinamato de metila, *trans*-sesquilandulol, *trans*-cariofileno, *trans*-cinamato de metila e *trans*-sesquilandulol), com proporção relativa acima de 1%, sendo estas de maior ocorrência entre as populações analisadas em função do período de coleta (inverno ou verão). Nas ACP, a variância total apresentada para cada localidade foi entre 68,79% a 84,58%.

Na população Poço Bonito, localizada na cidade de Lavras-MG, foram detectadas seis substâncias com proporção relativa acima de 1% (Tabelas 4) na coleta de inverno, pertencentes à classe dos monoterpenos (triciclono, β -pineno e silvestreno), fenilpropanóides (*trans*-cinamato de metila) e sesquiterpenos (*trans*-cariofileno, α -humuleno).

O *trans*-cinamato de metila foi a substância majoritária para todos os óleos essenciais que, a exceção do indivíduo Pbo12, variou de 62,25% a 79,72%, seguido do *trans*-cariofileno (12,44% a 27,68%) e o α -humuleno (3,52% a 7,18%).

Conforme demonstrado na Tabela 4 a proporção relativa do triciclono, β -pineno e silvestreno nos óleos essenciais foi maior nos indivíduos Pbo11 (1,47%, 3,33% e 0,34%, respectivamente), Pbo9 (1,17%, 2,12% e 0,32%), com destaque para o indivíduo Pbo12 na qual as proporções relativas foram maiores (5,47%, 8,89% e 1,19%).

O indivíduo Pbo12 apresentou a menor proporção relativa de *trans*-cinamato de metila (46,20%) desta população. Segundo a análise de componentes principais (Figura 4) este indivíduo pode ser discriminado pela presença do triciclono e do β -pineno, cuja soma das proporções relativas foi de 14,37% (Tabela 4).

Este é um indicativo da variação quanto à composição química do óleo essencial entre os indivíduos de uma mesma população, e evidencia que substâncias com menores proporções relativas podem distinguir alguns indivíduos como o caso do indivíduo Pbo12.

Tabela 4: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Poço Bonito, município de Lavras-MG, coleta de inverno de 2011.

Substância	triciclono	β -pineno	silvestreno	trans-cinamato de metila		trans-cariofileno	α -humuleno		Total identificado
Índice de retenção	932*	975*	1026*	1381*	1419*	1452*	1454**		
	926**	979**	1027**	1378**	1419**	1454**			
Pbo1	0,16 ef	0,14 g	0,04 d	74,11 bc	16,31 f	4,88 ef			95,60
Pbo2	0,47 def	0,51 efg	0,14 cd	69,13 def	20,60 cd	5,87 cd			96,72
Pbo3	0,63 cde	0,45 efg	0,34 b	62,25 g	25,01 b	7,18 a			95,86
Pbo4	0,51 def	0,97 de	0,34 b	63,94 g	24,31 b	6,46 b			96,53
Pbo5	0,43 def	1,04 de	0,07 d	71,85 cde	18,78 de	5,30 de			97,47
Pbo6	0,25 def	0,22 fg	0,15 cd	70,50 def	19,82 cd	5,57 cd			96,51
Pbo7	0,22 ef	0,38 efg	0,03 d	78,54 a	13,40 g	4,06 gh			96,63
Pbo8	0,21 ef	0,21 g	0,11 cd	74,44 bc	16,93 ef	4,95 ef			96,85
Pbo9	1,17 bc	2,12 c	0,32 b	64,99 g	21,49 c	5,92 bc			96,01
Pbo10	0,51 def	0,86 def	0,13 cd	78,49 a	12,44 g	3,52 h			95,95
Pbo11	1,47 b	3,33 b	0,34 b	70,79 def	17,03 ef	4,88 ef			97,84
Pbo12	5,47 a	8,89 a	1,19 a	46,20 h	27,68 a	7,05 a			96,48
Pbo13	0,30 def	0,22 fg	0,24 bc	68,49 f	21,31 c	5,90 bc			96,46
Pbo14	0,04 f	0,04 g	0,03 d	76,97 ab	15,58 f	4,54 fg			97,12
Pbo15	0,08 ef	0,10 g	0,07 d	68,75 ef	20,54 cd	6,04 bc			95,58
Pbo16	0,81 cd	1,37 d	0,32 b	72,33 cd	16,52 f	4,82 ef			96,17
Pbo17	0,41 def	0,25 fg	0,24 bc	79,72 a	12,84 g	3,75 h			97,21

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *IR (Índice de retenção calculado). **IR (Índice de retenção de literatura).

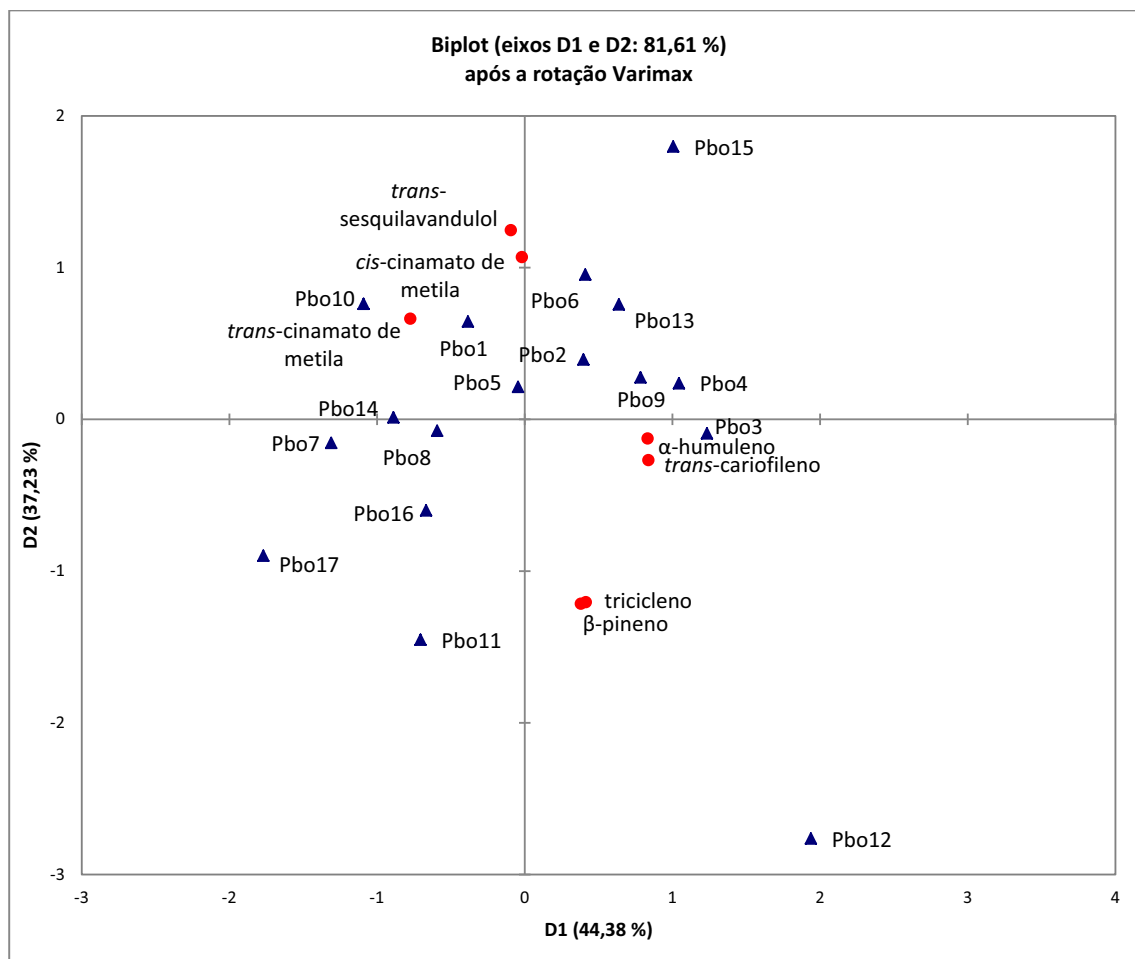


Figura 5: Análise de componentes principais do óleo essencial de *Lychnophora pinaster*, população Poço Bonito, Lavras-MG. Coleta de inverno de 2011.

Na coleta do verão a proporção relativa do *trans*-cinamato de metila nos óleos essenciais foi superior à coleta de inverno variando de 67,64% a 90,10% (Tabela 5) com a redução da proporção relativa do *trans*-cariofileno (4,56% a 18,78%) e α -humuleno (1,46% a 4,88%).

Nesta estação (verão) para o indivíduo Pbo12, que havia se diferenciado dos demais indivíduos na coleta realizada no inverno, não foi observada a presença do silvestreno em proporção relativa acima de 1% para nenhum dos indivíduos amostrados. Observa-se significativo aumento da proporção relativa do *trans*-cinamato de metila nos óleos essenciais da coleta realizada no inverno em relação à do verão: 46,20% para

79,97% (Tabela 5). Situação inversa ocorreu para o *trans*-cariofileno (27,68% para 9,13%), α -humuleno (7,05% para 2,86%), triciclano (5,47% para 0,85%) e β -pineno (8,89% para 1,73).

Assim como observado para a coleta do inverno a composição química dos óleos essenciais entre os indivíduos da População Poço Bonito coletados no verão apresentou divergências significativas.

Tabela 5: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Poço Bonito, município de Lavras-MG, coleta de verão de 2011.

Substâncias	trícicleno	β -pineno	<i>trans</i> -cinamato de metila	<i>trans</i> -cariofileno	α -humuleno	<i>trans</i> -sesquilandulol	Total identificado
	932*	975*	1381*	1419*	1452*	1634*	
Índice de retenção	926**	979**	1378**	1419**	1454**	1632**	
Pbo1	0,04 f	0,14 gh	80,36 efg	11,38 def	3,68 bc	1,41 a	96,97
Pbo2	1,22 b	1,25 d	82,11 e	8,40 hi	2,56 fg	0,78 def	96,32
Pbo3	0,04 f	0,04 h	86,52 bc	8,13 hi	2,62 fg	0,75 def	98,02
Pbo4	0,31 e	0,63 f	88,05 b	5,54 jk	1,80 hi	0,53 efg	96,86
Pbo5	0,04 f	0,04 h	90,10 a	4,56 k	1,46 i	0,93 bcde	97,09
Pbo6	0,20 ef	0,19 gh	79,24 fgh	11,44 de	3,45 cd	0,84 cde	95,36
Pbo7	0,22 ef	0,34 g	85,61 cd	6,56 ij	2,11 gh	1,22 abc	96,06
Pbo8	0,22 ef	0,21 gh	78,72 gh	11,61 de	3,43 cd	1,05 abcd	95,24
Pbo9	0,86 c	2,21 b	77,51 hi	9,86 efgh	3,05 def	1,32 ab	94,81
Pbo10	1,45 a	2,48 a	67,64 k	18,78 a	5,28 a	0,04 h	95,63
Pbo11	0,53 d	0,97 e	75,79 ij	14,25 c	4,23 b	0,80 cde	96,57
Pbo12	0,85 c	1,73 c	79,97 fg	9,13 gh	2,86 ef	0,91 bcde	95,45
Pbo13	0,36 de	0,17 gh	74,17 j	16,86 b	4,88 a	0,25 gh	96,69
Pbo14	0,26 e	0,18 gh	84,19 d	9,57 fgh	2,98 def	0,06 h	97,24
Pbo15	0,38 de	0,31 g	81,05 ef	10,48 efg	3,37 cde	0,04 h	95,59
Pbo16	0,99 c	1,41 d	76,78 i	12,49 cd	3,74 bc	0,56 efg	95,97
Pbo17	0,33 e	0,27 g	86,88 bc	6,95 ij	2,20 gh	0,35 fgh	96,98

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * IR (Índice de retenção calculado). ** IR (Índice de retenção de literatura).

Na ACP da coleta do verão, como pode ser observada na Figura 6, o indivíduo Pbo10 pode ser discriminado pela presença do tricicleno e do β -pineno, sendo a soma destas substâncias de 3,94%, o maior valor observado em relação aos demais indivíduos (Tabela 5).

O indivíduo Pbo13 é discriminado pela maior proporção relativa de *trans*-cariofileno, α -humuleno e *cis*-cinamato de metila, cuja soma destas perfaz 21,97%, e diferente do indivíduos Pbo10, que também possui alta proporção relativa destas substâncias (24,78%), porem o indivíduo Pbo13 possui uma baixa proporção relativa de do tricicleno e β -pineno (0,54%) quando comparado com o indivíduo Pbo10 (3,94%).

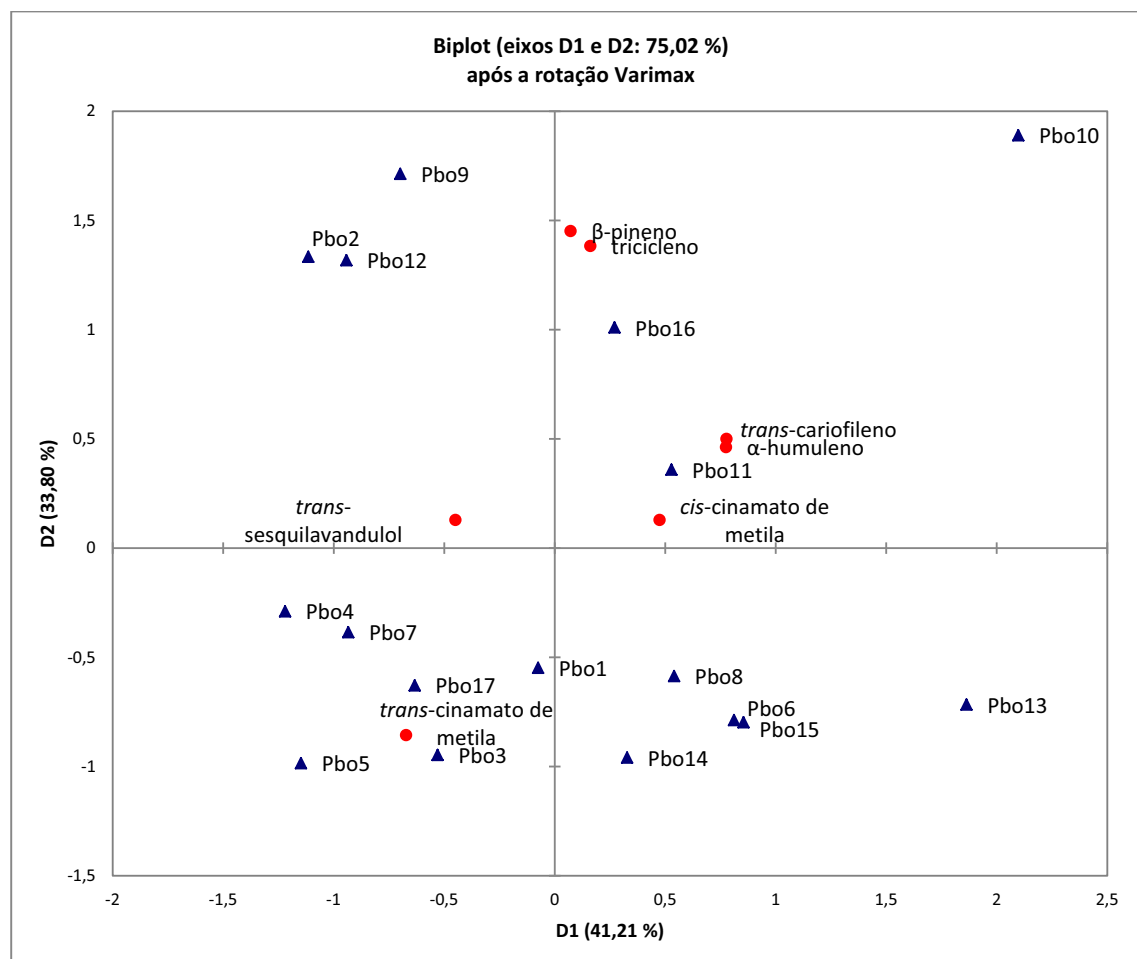


Figura 6: Análise de componentes principais do óleo essencial de *Lychnophora pinaster*, população Poço Bonito, Lavras-MG. Coleta de verão de 2011.

Ao observar as médias das proporções relativas das substâncias dos óleos essenciais da população Poço Bonito, observa-se que o *trans*-cinamato de metila está relacionado ao período de verão, enquanto o *trans*-cariofileno ao período de inverno.

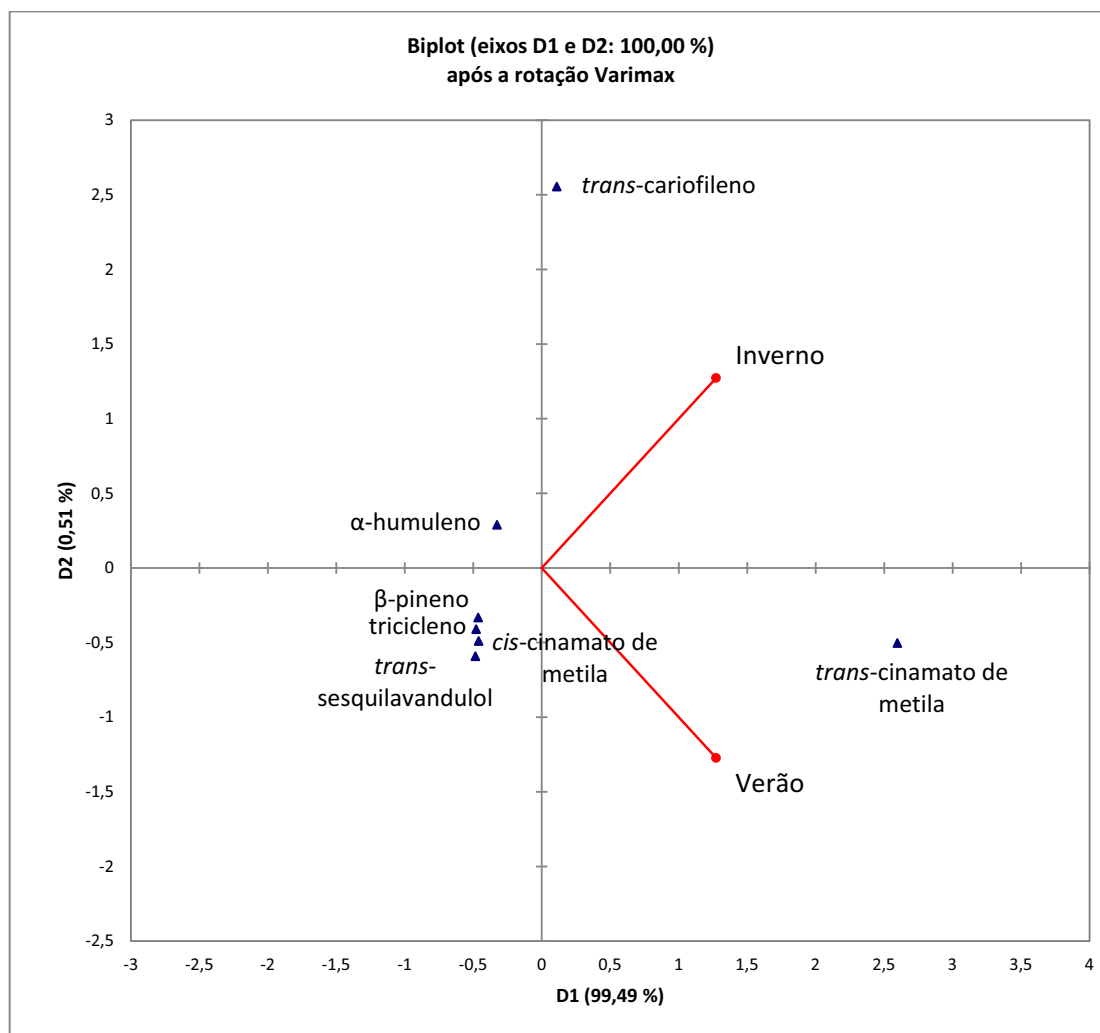


Figura 7: Análise de componentes principais da população Poço Bonito, Lavras-MG, em relação ao período de coleta.

Na população Serra do Sofá, Itumirim-MG foram encontradas oito substâncias com proporção acima de 1% na coleta de inverno e sete substâncias na coleta de verão (Tabela 6 e 7) nos óleos essenciais dos vinte e nove indivíduos amostrados.

Para as duas estações do ano (inverno, verão) os óleos essenciais apresentaram como substâncias mais abundantes o *trans*-cinamato de metila, *trans*-cariofileno e α -humuleno.

Os óleos essenciais da coleta de inverno apresentaram menor proporção relativa para o *trans*-cinamato de metila (40,17% a 77,30%) que a do verão (62,36% a 84,06%). Para o *trans*-cariofileno observa-se comportamento inverso, com maior proporção relativa para a coleta de inverno (15,04% a 40,77%) que a do verão (7,23% a 24,20%). Tal comportamento foi semelhante ao observado para a população de Poço Bonito.

De maneira geral, à exceção do indivíduo Sso28, todos os indivíduos amostrados nas duas estações do ano apresentaram o *trans*-cinamato de metila como substância mais abundante no óleo essencial (Tabela 6 e 7).

Na coleta de inverno três indivíduos (Sso7, Sso8 e Sso17) possuem proporção relativa maior que 2,5% para as substâncias triciclono e β -pineno, sendo o indivíduo Sso17 o que possui a maior quantidade (4,83% e 6,75%, respectivamente). Na coleta de verão a proporção relativa destas substâncias são inferiores, sendo o máximo 2,03% e 2,39% respectivamente, para o indivíduo Sso25 (Tabela 7).

Dentre os indivíduos amostrados nesta população, o indivíduo Sso28 apresentou proporção relativa semelhante entre o *trans*-cinamato de metila (44,17%) e o *trans*-cariofileno (40,77%) para os óleos essenciais obtidos na coleta de inverno, cujo comportamento não se manteve para a coleta de verão: 77,63% para o *trans*-cinamato de metila e 12,65% para o *trans*-cariofileno.

Tabela 6: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Serra do Sofá, município de Itumirim-MG, coleta de inverno de 2011.

Substâncias	triciclono	β-pineno	terpinen-4-ol	cis-cinamato de metila	trans-cinamato de metila	trans-cariofileno	α-humuleno	trans-sesquilavandulol	Total identificado
Índice de retenção	932* 926**	975* 979**	1174* 1177**	1301* 1299**	1381* 1378**	1419* 1419**	1452* 1454**	1634* 1632**	
Sso1	0,69 ghijk	1,02 ghijkl	0,04 p	0,13 no	72,19 d	17,24 mno	5,15 o	0,56 de	96,98
Sso2	1,32 efg	2,13 cde	0,17 lmno	0,53 jkl	67,59 g	19,81 klmn	5,51 n	0,46 fg	97,52
Sso3	1,00 defghi	1,27 efghij	0,48 g	0,76 defghij	69,63 f	18,69 klmn	5,55 mn	0,34 hijk	97,72
Sso4	1,63 de	2,31 cd	0,60 f	0,40 klmn	52,32 n	31,39 c	8,72 c	0,22 l	97,59
Sso5	0,33 ijk	0,29 jklm	0,71 e	0,04 o	63,57 ij	24,57 fgh	7,09 f	0,42 gh	96,98
Sso6	0,76 fghijk	1,01 ghijkl	0,04 p	1,37 ab	69,90 ef	16,78 nop	4,84 p	0,86 b	95,52
Sso7	3,75 b	4,18 b	0,36 hi	0,17 mno	64,26 i	18,75 klmn	5,23 o	0,04 m	96,74
Sso8	2,70 c	4,27 b	0,30 ij	0,44 klmn	63,90 ij	20,18 jklm	5,54 m	0,25 kl	97,58
Sso9	0,21 ijk	0,2 klm	0,43 gh	1,01 cd	57,21 l	28,73 cd	8,28 d	0,73 c	96,8
Sso10	0,75 fghijk	0,73 hijklm	0,44 gh	0,87cdefghi	75,47 b	15,04 op	4,22 r	0,38 ghi	97,9
Sso11	0,84 efghij	1,41 defghi	0,14 no	0,41 klmn	67,37 g	20,67 jkl	5,73 lm	0,53 def	97,1
Sso12	0,01 k	0,01 m	0,01 p	0,47 jklm	61,30 k	25,40 efg	6,88 f	1,29 a	95,34
Sso13	1,54 def	2,66 c	0,95 c	0,88 cdefgh	55,25 m	27,52 def	7,79 e	0,27 jkl	96,86
Sso14	0,69 ghijk	0,75 hijklm	0,24 jklm	0,47 jklm	50,15 o	35,57 b	9,51 b	0,34 hijk	97,72

Indivíduos

Tabela 6: Continuação.

Indivíduos	trícicleno	β -pineno	terpinen-4-ol	cis-cinamato de metila	trans- cinamato de metila	trans- cariofileno	α -humuleno	trans- sesquilavandulol	Total identificado
Sso15	0,39 ijk	0,49 ijklm	0,27 jk	0,94 cdef	77,30 a	14,07 p	4,13 r	0,42 gh	98,01
Sso16	0,76 fghijk	1,27 efghij	0,73 de	0,54 jkl	65,64 h	21,22 ijk	6,12 ij	0,42 gh	96,7
Sso17	4,83 a	6,75 a	0,80 d	0,93 cdefg	40,73 q	31,41 c	8,14 d	0,43 gh	94,02
Sso18	0,54 ghijk	0,59 ijklm	0,22 klmn	1,08 bc	71,02 de	16,99 nop	4,73 p	0,04 m	95,21
Sso19	0,79 fghijk	0,57 ejklm	1,28 a	0,96 cde	64,20 i	21,74 hijk	6,30 hi	0,43 gh	96,27
Sso20	1,22 defgh	1,80 cdefg	1,18 b	1,60 a	54,30 m	27,91 de	7,72 e	0,46 efg	96,19
Sso21	0,66 ghijk	0,63 ejklm	0,90 c	0,61 hijkl	62,67 j	23,96 ghi	6,66 g	0,72 c	96,81
Sso22	0,61 ghijk	1,14 fghijk	0,04 p	0,56 ijk	73,93 c	15,10 op	4,44 q	0,29 ijkl	96,11
Sso23	1,25 defg	1,79 cdefg	0,14 o	0,64 fghijkl	54,91 m	29,19 cd	8,12 d	0,61 d	96,65
Sso24	1,32 defg	1,71 cdefgh	0,18 lmno	0,67 efghijk	66,81 gh	17,96 lmno	5,68 lmn	0,35 hij	94,68
Sso25	0,97 efghi	1,46 defghi	0,17 lmno	0,63 ghijkl	64,20 i	23,00 ghij	6,38 h	0,59 d	97,4
Sso26	0,41 hijk	0,54 ejklm	0,20 klmn	0,40 klmn	69,35 f	19,82 klmn	5,72 lmn	0,45 fg	96,89
Sso27	0,10 jk	0,07 lm	0,25 jkl	0,68 efghijk	68,97 f	20,87 ijkl	6,04 jk	0,45 fg	97,43
Sso28	0,98 defghi	1,31 efghi	0,17 mno	0,34 lmno	44,17 p	40,77 a	10,13 a	0,20 l	98,07
Sso29	1,80 d	2,06 cdef	0,59 f	0,45 klm	64,21 i	20,58 jkl	5,88 kl	0,04 m	95,57

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *IR (Índice de retenção calculado). **IR (Índice de retenção de literatura).

Tabela 7: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Serra do Sofá, município de Itumirim-MG, coleta de verão de 2011.

Substâncias	trícicleno	β-pineno	cis-cinamato de metila	trans-cinamato de metila	trans-cariofileno	α-humuleno	trans-sesquilandulol	Total identificado
Índices de retenção	932*	975*	1301*	1381*	1419*	1452*	1634*	
	926**	979**	1299**	1378**	1419**	1454**	1632**	
Sso1	1,56 bc	2,04 bc	0,13 ij	73,13 ij	16,33 h	4,93 hi	0,27 j	98,39
Sso2	1,51 bcd	1,90 cde	0,19 ghij	70,99 k	17,92 f	5,29 fg	0,56 fghij	98,36
Sso3	1,28 ef	1,34 hi	0,70 abc	67,75 lm	19,80 e	5,70 e	0,68 defghi	97,25
Sso4	1,31 def	1,74 def	0,16 hij	62,56 q	24,20 a	7,17 a	0,40 ij	97,54
Sso5	0,42 klm	0,31 no	0,23 fghij	65,42 op	22,36 b	6,59 b	0,72 defgh	96,05
Sso6	1,15 f	2,24 ab	0,94 ab	71,05 k	15,74 i	4,59 jk	0,85 bcdef	96,56
Sso7	1,25 ef	1,28 hi	0,22 fghij	78,85 de	11,18 m	3,34 no	0,70 defghi	96,82
Sso8	1,55 bc	2,40 a	0,31 efghij	72,66 j	14,89 j	4,39 k	0,71 defgh	96,91
Sso9	0,36 lm	0,33 no	0,62 cde	66,47 no	21,26 c	6,42 bc	0,81 cdef	96,27
Sso10	0,72 ghi	0,62 lm	0,34 defghij	81,49 b	10,59 no	3,15 op	0,73 defgh	97,64
Sso11	1,43 cde	1,94 cd	0,18 ghij	81,49 b	7,23 q	2,19 r	1,16 a	93,68
Sso12	0,27 m	0,18 op	1,02 a	66,41 no	20,60 d	6,01 d	1,11 abc	95,6
Sso13	0,52 ijkl	0,55 lmn	0,30 efghij	70,78 k	17,84 f	5,24 g	0,92 abcde	96,15
Sso14	0,89 g	1,48 gh	0,50 cdefg	70,72 k	16,09 hi	4,78 ij	0,95 abcd	95,41

Indivíduos

Tabela 7: Continuação.

Indivíduos	tricicleno	β -pineno	cis-cinamato de metila	trans-cinamato de metila	trans-cariofileno	α -humuleno	trans-sesquilavandulol	Total identificado
Sso15	0,36 lm	0,35 no	0,48 cdefgh	84,06 a	9,02 p	2,75 q	0,43 hij	97,45
Sso16	0,75 gh	1,20 ij	0,37 cdefghij	70,71 k	17,09 g	5,09 gh	0,75 defg	95,96
Sso17	0,74 gh	1,08 ij	0,52 cdef	77,92 ef	11,24 m	3,40 mn	0,78 defg	95,68
Sso18	0,49 kl	0,47 mn	0,94 ab	81,03 bc	9,05 p	2,74 q	0,81 cdef	95,53
Sso19	0,50 kl	0,34 no	0,66 bcd	76,52 gh	11,83 l	3,55 m	1,12 ab	94,52
Sso20	1,70 b	2,36 a	0,65 bcd	64,68 p	17,84 f	5,49 f	0,70 defgh	93,42
Sso21	0,51 jkl	0,48 mn	0,21 fghij	79,99 cd	10,02 o	3,03 p	0,59 fghi	94,83
Sso22	0,91 g	1,60 fg	0,08 j	78,82 e	10,69 mn	3,27 no	0,62 efghi	95,99
Sso23	1,51 bcd	1,86 cde	0,42 cdefghi	73,88 i	12,28 kl	3,92 l	0,79 defg	94,66
Sso24	1,14 f	1,65 efg	0,43 cdefghi	78,47 ef	10,66 mn	3,31 no	0,56 fghij	96,22
Sso25	2,03 a	2,39 a	0,52 cdef	62,36 q	22,07 b	6,28 c	0,50 ghij	96,15
Sso26	0,71 ghij	0,74 kl	0,37 defghij	67,33 mn	19,98 e	5,72 e	0,79 defg	95,64
Sso27	0,04 n	0,04 p	0,39 cdefghij	68,63 l	19,57 e	5,83 de	0,61 fghi	95,11
Sso28	0,60 hijk	0,79 kl	0,27 fghij	77,63 fg	12,65 k	3,81 l	0,43 hij	96,18
Sso29	0,88 g	0,95 jk	0,30 efghij	76,13 h	14,33 j	4,45 k	0,27 j	97,31

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *IR (Índice de retenção calculado). **IR (Índice de retenção de literatura).

Para a população Serra do Sofá (Itumirim-MG), coletada no inverno, na análise de componentes principais (Figura 8) pode-se discriminar o indivíduo Sso17 pela presença de triciclono e β -pineno, sendo a somatória da proporção relativa destas substâncias nos óleos essenciais significativamente superior (11,58%), em relação aos demais indivíduos (Tabela 6).

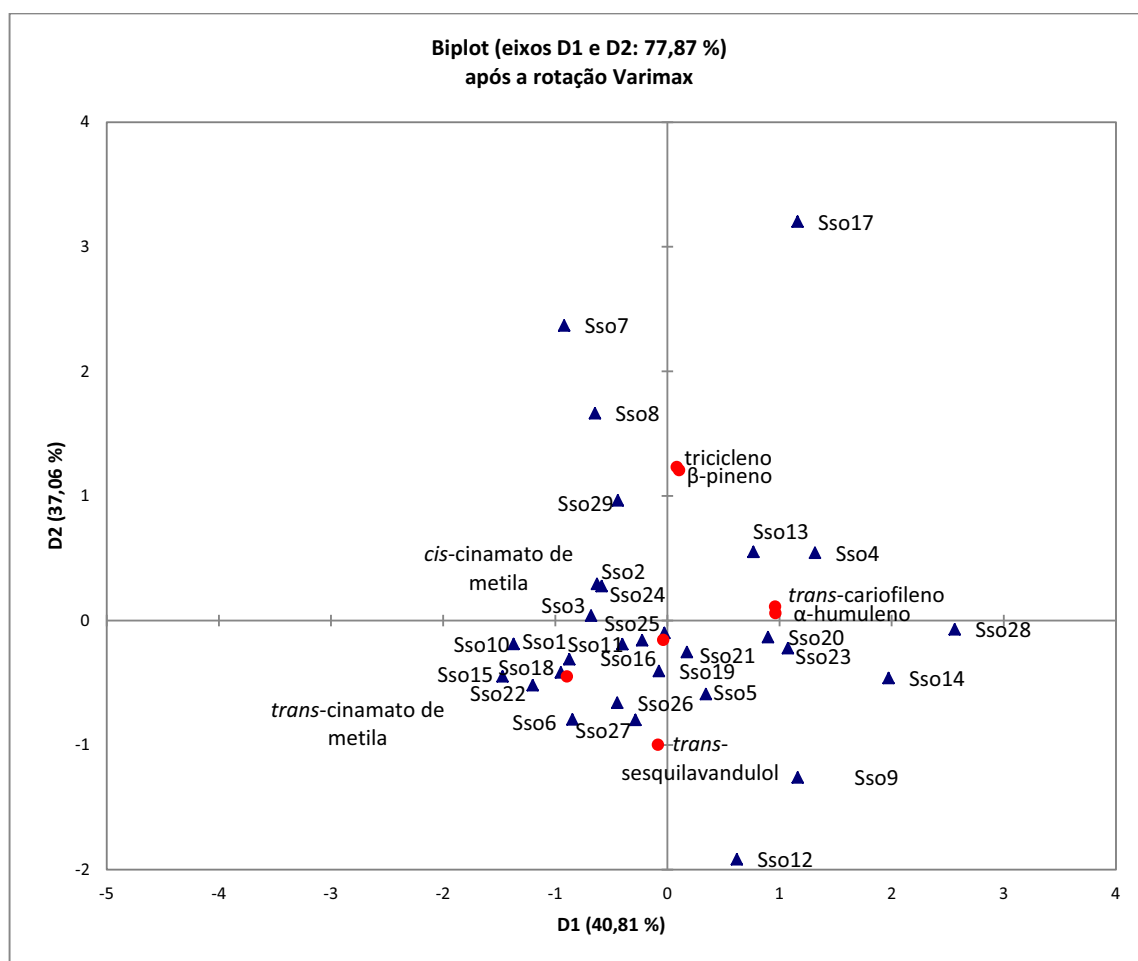


Figura 8: Análise de componentes principais do óleo essencial de *Lychnophora pinaster*, população Serra do Sofá, Itumirim-MG. Coleta de inverno de 2011.

Para a coleta realizada no verão na população Serra do Sofá, pela análise de componentes principais (Figura 9), pode-se discriminar o indivíduo Sso12 pela substância *cis*-cinamato de metila, cuja proporção relativa é superior (1,02%) aos demais indivíduos da população (Tabela 7).

O indivíduo Sso17, diferenciado na análise de componentes principais da coleta de inverno pela presença de tricicleno e β -pineno apresentou redução das proporções relativas destas substâncias em relação a coleta de verão (de 4,83% a 0,74% para tricicleno e de 6,75% a 1,08% para β -pineno), justificando a distância deste indivíduo em relação a estas substâncias na análise de componentes principais da coleta de verão (Figura 9).

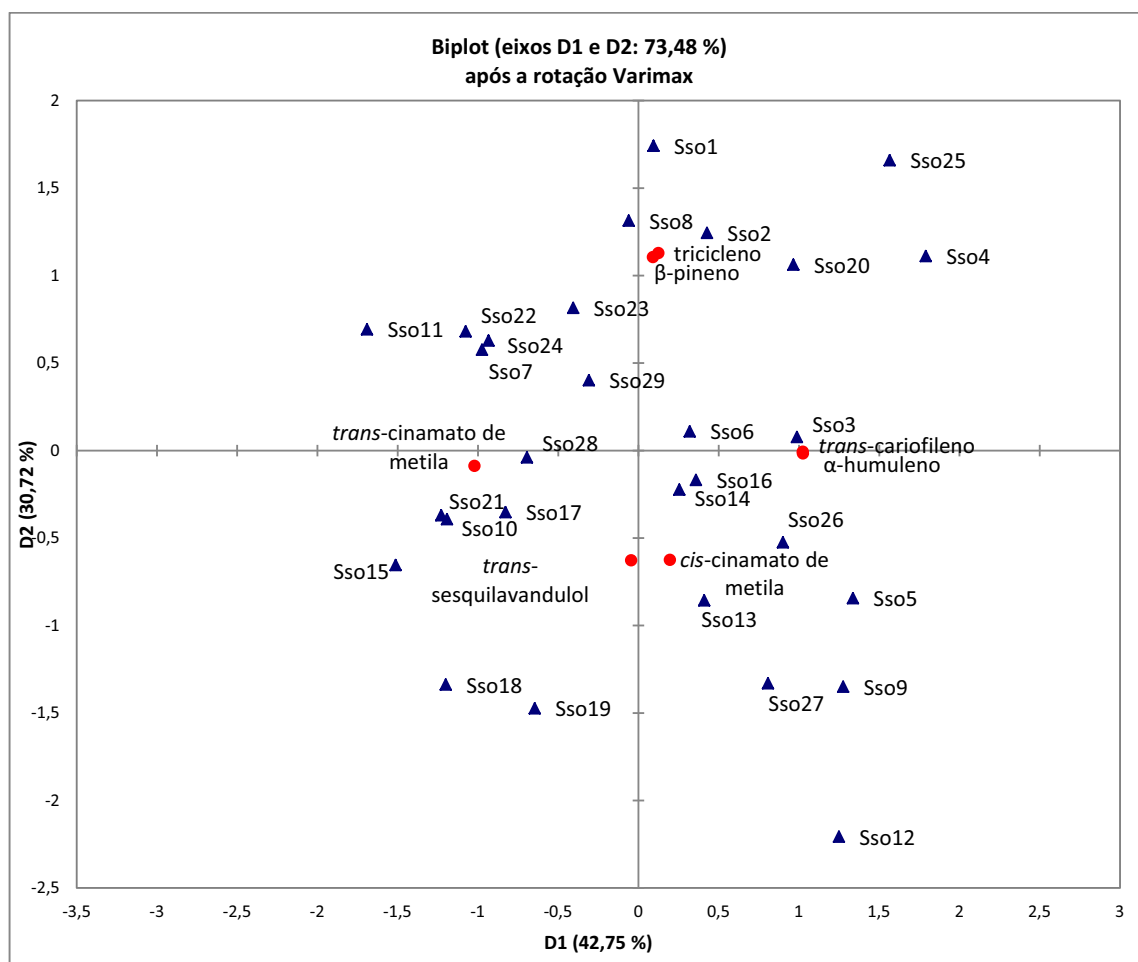


Figura 9: Análise de componentes principais do óleo essencial de *Lychnophora pinaster*, população Serra do Sofá, Itumirim-MG. Coleta de verão de 2011.

O perfil da análise de componentes principais para a população Serra do Sofá em função da sazonalidade foi semelhante à população Poço Bonito, de Lavras-MG, onde o *trans*-cinamato de metila está associado ao período de verão e o *trans*-cariofileno relacionado ao inverno.

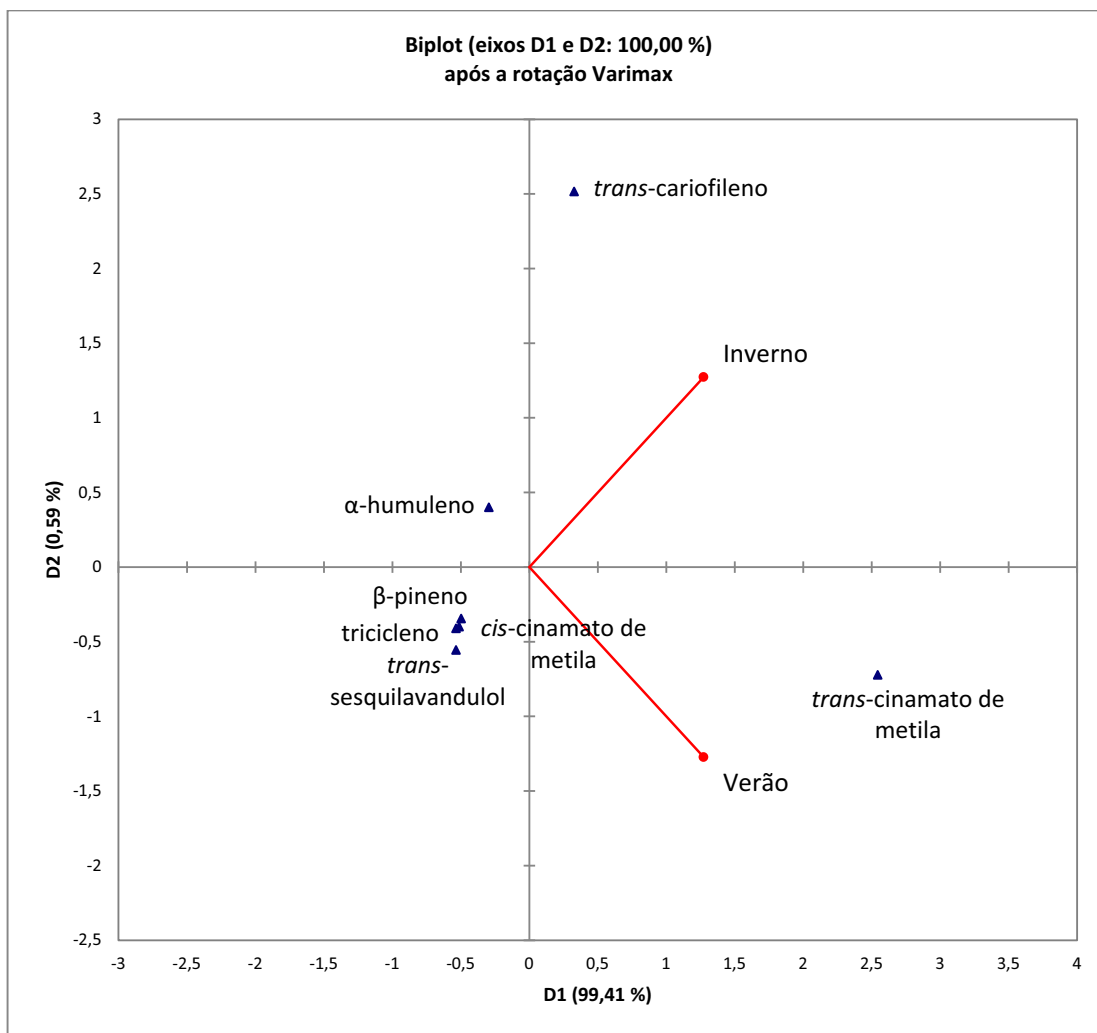


Figura 10: Análise de componentes principais da população Serra do Sofá, Itumirim-MG. Disposição das substâncias majoritárias em relação ao período de coleta.

Para a população Areia Branca, localizada no município de Carrancas-MG, diferente das anteriores observa-se para os óleos essenciais aumento na proporção relativa da substância *cis*-cinamato de metila, além das substâncias majoritárias (*trans*-cinamato de metila, *trans*-cariofileno e α -humuleno) (Tabelas 8 e 9).

O *cis*-cinamato de metila nas populações anteriores não apresentou proporção relativa maior que 2% para os indivíduos das demais populações, enquanto na população Areia Branca foi de 6,67% na coleta inverno para o indivíduo Abr03 e 7,19% na coleta de verão para o indivíduo Abr25.

Na coleta de inverno a proporção relativa de *trans*- cinamato de metila variou entre 40,68% a 75,44%, o *trans*-cariofileno de 13,41% a 39,40% e o α -humuleno de 6,69% a 9,43%. No verão o *trans*-cinamato de metila variou entre 44,61% a 83,43%, o *trans*-cariofileno de 6,69% a 32,61% e o α -humuleno de 1,95% a 8,97%.

Na população Areia Branca, a soma das proporções relativas das três substâncias majoritárias perfizeram 87,78% no inverno e 86,06% no verão, do total da composição química dos óleos essenciais.

Tabela 8: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Areia Branca, município de Carrancas-MG, coleta de inverno de 2011.

Substâncias	triciclono	β -pineno	γ -terpineno	terpinen-4-ol	cis-cinamato de metila	trans-cinamato de metila	trans-cariofileno
Índice de retenção	932*	975*	1056*	1174*	1301*	1381*	1419*
	926**	979**	1059**	1177**	1299**	1378**	1419**
Abr01	0,74 bcd	1,19 cde	0,20 de	0,23 hi	0,04 m	54,91 k	29,45 b
Abr02	0,49 de	0,89 f	0,02 f	0,04 j	2,61 f	70,21 c	13,41 p
Abr03	0,04 f	0,04 i	0,04 f	0,04 j	6,67 a	61,07 i	14,05 o
Abr04	0,32 ef	0,27 ghi	0,29 cd	0,48 cde	0,41 kl	75,10 a	15,80 l
Abr05	0,26 ef	0,23 hi	0,27 cd	0,44 def	1,09 ij	69,60 cd	18,17 j
Abr06	0,26 ef	0,25 hi	0,22 de	0,49 cde	1,27 i	73,01 b	14,93 m
Abr07	0,04 f	0,04 i	0,04 f	0,10 j	0,59 k	69,68 c	20,13 h
Abr08	0,04 f	0,04 i	0,04 f	0,04 j	5,43 b	58,08 j	16,75 k
Abr09	0,29 ef	0,18 hi	0,04 f	0,48 cde	0,38 kl	68,46 de	18,31 j
Abr10	0,67 cd	1,14 def	0,04 f	0,32 gh	1,88 h	66,25 f	16,89 k
Abr11	1,04 ab	1,58 ab	0,21 de	0,35 fg	0,92 j	66,30 f	19,46 i
Abr12	0,85 abc	1,63 a	0,04 f	0,04 j	3,47 d	50,77 m	26,28 d
Abr13	0,73 bcd	1,47 abc	0,04 f	0,04 j	0,50 k	67,60 e	19,64 hi
Abr14	0,04 f	0,04 i	0,39 c	0,55 cd	3,16 e	52,11 l	21,06 g

Indivíduos

Tabela 8: Continuação.

Indivíduos	Substâncias		α -humuleno	óxido de cariofileno	<i>trans</i> -sesquilavandulol		Total identificado
	Índice de retenção						
		1452*	1550*	1634*			
		1454**	1581**	1632**			
	Abr01	8,69 b	0,25 jkl	0,76 fghi			96,46
	Abr02	3,85 r	0,64 g	1,94 d			94,1
	Abr03	3,95 qr	1,62 c	2,57 c			90,09
	Abr04	4,52 n	0,16 klmn	0,52 hij			97,87
	Abr05	5,39 k	0,29 ijk	1,0 fgh			96,74
	Abr06	4,35 no	0,29 ijk	1,24 ef			96,31
	Abr07	5,74 ij	0,22 jklm	0,71 ghi			97,29
	Abr08	4,77 m	1,31 d	3,23 b			89,73
	Abr09	5,37 k	0,30 ij	1,07 fg			94,88
	Abr10	4,90 m	0,85 f	1,70 de			94,64
	Abr11	5,60 j	0,46 h	0,77 fghi			96,69
	Abr12	7,18 e	1,16 e	1,82 d			93,24
	Abr13	5,91 hi	0,22 jkl	0,70 ghi			96,85
	Abr14	6,12 g	1,81 b	3,14 b			88,42

Tabela 8: Continuação.

Indivíduos	triciclono	β -pineno	γ -terpineno	terpinen-4-ol	cis-cinamato de metila	trans-cinamato de metila	trans-cariofileno
Abr15	0,24 ef	0,24 hi	0,19 de	0,40 efg	0,04 m	73,26 b	16,96 k
Abr16	0,77 bcd	1,20 cde	0,25 de	0,35 fgh	0,09 m	75,44 a	14,66 mn
Abr17	1,08 a	0,97 ef	1,24 a	1,48 a	0,92 j	40,68 o	39,40 a
Abr18	0,04 f	0,04 i	0,04 f	0,35 fgh	4,31 c	64,84 g	14,15 no
Abr19	0,77 bcd	1,12 def	0,31 cd	0,57 c	0,14 lm	64,41 gh	20,71 g
Abr20	0,86 abc	1,32 bcd	0,18 de	0,44 ef	0,04 m	63,44 h	22,13 f
Abr21	0,04 f	0,04 i	0,12 ef	0,42 efg	3,54 d	36,89 p	29,95 b
Abr22	0,04 f	0,04 i	0,21 de	0,49 cde	4,50 c	43,64 n	28,12 c
Abr23	0,04 f	0,04 i	0,04 f	0,43 efg	3,26 de	50,36 m	24,79 e
Abr24	0,24 ef	1,02 ef	0,04 f	0,04 j	2,27 g	57,68 j	19,19 i
Abr25	0,23 ef	0,54 g	0,04 f	0,14 ij	5,23 b	57,78 j	17,86 j
Abr26	0,65 cd	0,46 gh	0,61 b	1,14 b	0,04 m	61,51 i	24,51 e

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *IR (Índice de retenção calculado). **IR (Índice de retenção de literatura).

Tabela 8: Continuação.

Indivíduos	α -humuleno	óxido de cariofileno	<i>trans</i> -sesquilavandulol	Total identificado
Abr15	4,74 m	0,17 jklmn	0,62 ghi	96,86
Abr16	4,23 op	0,04 n	0,44 ij	97,47
Abr17	9,43 a	0,39 hi	0,04 j	95,63
Abr18	4,10 pq	1,26 de	2,6 c	91,73
Abr19	6,06 gh	0,18 jklm	0,66 ghi	94,93
Abr20	6,35 f	0,08 mn	0,83 fghi	95,67
Abr21	8,38 c	1,93 ab	4,15 a	85,46
Abr22	8,13 d	2,04 a	2,53 c	89,74
Abr23	7,02 e	1,12 e	2,17 cd	89,27
Abr24	5,70 j	1,89 b	1,72 de	89,79
Abr25	5,10 l	1,53 c	2,12 cd	90,57
Abr26	7,10 e	0,14 lmn	0,47 hij	96,63

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *IR (índice de retenção calculado). **IR (índice de retenção de literatura).

Tabela 9: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Areia Branca, município de Carrancas-MG, coleta de verão de 2011.

Substâncias	triciclono	β-pineno	p-cimeno	cis-cinamato de metila	trans-cinamato de metila	trans-cariofileno
Índice de retenção	932*	975*	1022*	1301*	1381*	1419*
	926**	979**	1024**	1299**	1378**	1419**
Abr01	0,63 efg	1,12 c	0,04 f	0,22 j	65,82 de	17,78 de
Abr02	0,12 kl	0,48 de	0,04 f	2,07 ef	78,61 b	6,69 l
Abr03	0,04 l	0,04 g	0,04 f	0,04 j	59,80 f	12,19 ghij
Abr04	0,10 kl	0,23 efg	0,12 def	0,40 j	83,43 a	7,43 l
Abr05	0,39 hij	0,28 efg	0,04 f	0,61 ij	66,21 d	19,11 cd
Abr06	0,10 kl	0,04 g	0,04 f	1,69 fg	71,36 c	13,86 fgh
Abr07	0,04 l	0,04 g	0,04 f	1,53 fg	55,95 g	23,90 b
Abr08	0,04 l	0,04 g	0,04 f	4,53 c	63,75 de	11,02 hijk
Abr09	0,25 ijk	0,19 fg	0,10 def	0,43 j	72,94 c	13,25 fghi
Abr10	0,96 c	1,76 b	0,31 bc	1,27 ghi	71,95 c	12,45 ghij
Abr11	0,44 ghi	1,88 ab	0,22 bcde	1,44 fgh	70,87 c	14,26 efgh
Abr12	0,20 jkl	0,57 d	0,04 f	1,90 fg	64,86 de	11,60 hij
Abr13	0,89 cd	1,84 ab	0,04 f	0,39 j	72,41 c	13,72 fgh
Abr14	0,04 l	0,04 g	0,04 f	1,86 fg	44,61 i	32,61 a

Indivíduos

Tabela 9: Continuação.

Substâncias	α -humuleno	óxido de cariofileno	<i>trans</i> -sesquilavandulol	Total identificado
Índice de retenção	1452* 1454**	1550* 1581**	1634* 1632**	
Abr01	5,52 def	0,26 ghi	1,42 hijkl	92,81
Abr02	1,95 o	0,69 ef	1,72 ghi	92,37
Abr03	4,33 ghi	1,04 e	7,58 a	85,10
Abr04	2,32 mno	0,04 i	0,81 kl	94,88
Abr05	5,75 cde	0,13 hi	1,48 ghijkl	94,00
Abr06	4,15 ghij	0,24 ghi	1,70 ghij	93,18
Abr07	6,67 bc	0,13 hi	2,30 efg	90,60
Abr08	3,21 jklm	1,57 cd	3,95 bc	88,15
Abr09	3,94 ghijk	0,32 fghi	1,59 ghijk	93,01
Abr10	3,57 ijkl	0,54 fg	1,22 ijkl	94,03
Abr11	4,11 ghij	0,47 fgh	1,04 ijkl	94,73
Abr12	3,52 ijkl	1,01 e	4,32 b	88,02
Abr13	4,37 ghi	0,19 ghi	0,86 jkl	94,71
Abr14	8,97 a	1,86 abcd	3,43 cd	93,46

Indivíduos

Tabela 9: Continuação.

Indivíduos	triciclono	β -pineno	p-cimeno	cis-cinamato de metila	trans-cinamato de metila	trans-cariofileno
Abr15	0,24 ijkl	0,25 efg	0,08 def	0,04 j	83,99 a	7,48 kl
Abr16	0,71 def	1,17 c	0,06 ef	0,13 j	80,65 ab	10,07 ijkl
Abr17	0,49 gh	0,38 def	0,24 bcd	0,73 hij	72,29 c	16,34 def
Abr18	0,04 l	0,04 g	0,34 bc	5,89 b	62,34 ef	13,10 fghi
Abr19	1,43 a	1,68 b	0,18 cdef	0,26 j	59,69 fg	22,71 b
Abr20	1,46 a	2,04 a	0,35 bc	0,09 j	72,87 c	12,47 ghij
Abr21	0,04 l	0,04 g	0,04 f	3,04 d	51,53 h	22,49 bc
Abr22	0,04 l	0,04 g	0,04 f	2,74 de	47,90 hi	23,90 b
Abr23	0,82 cde	0,64 d	1,98 a	1,63 fg	46,83 i	23,27 b
Abr24	0,04 l	0,15 fg	0,04 f	0,74 hij	64,84 de	9,45 jkl
Abr25	0,52 fgh	0,04 g	0,04 f	7,19 a	62,42 ef	13,75 fgh
Abr26	1,20 b	0,26 efg	0,35 b	0,23 j	71,56 c	15,65 defg

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *IR (Índice de retenção calculado). **IR (Índice de retenção de literatura).

Tabela 9: Continuação.

Indivíduos	α -humuleno	óxido de cariofileno	<i>trans</i> -sesquilandulol	Total identificado
Abr15	2,24 no	0,17 ghi	0,89 ijkl	95,38
Abr16	2,99 klmn	0,04 i	0,66 l	96,48
Abr17	4,86 efg	0,29 ghi	0,83 kl	96,45
Abr18	3,60 ijkl	1,99 ab	3,46 cd	90,8
Abr19	6,47 bcd	0,19 ghi	1,11 ijkl	93,72
Abr20	3,74 hijkl	0,04 i	0,98 ijkl	94,04
Abr21	6,34 bcd	1,79 bcd	2,99 de	88,3
Abr22	6,88 b	2,22 a	3,93 bc	87,69
Abr23	6,79 b	1,47 d	2,88 def	86,31
Abr24	2,97 lmno	1,92 abc	4,57 b	84,72
Abr25	4,03 ghij	1,49 d	2,10 fgh	91,58
Abr26	4,65 fgh	0,04 i	1,03 ijkl	94,97

• Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *IR (Índice de retenção calculado). **IR (Índice de retenção de literatura).

Como pode ser observado na Figura 11, na população Areia Branca, proveniente do município de Carrancas-MG, segundo a análise de componentes principais o indivíduo Abr17 pode ser discriminado pelas substâncias *trans*-cariofileno e α -humuleno por apresentar a maior proporção relativa destas (39,40 e 9,43%; respectivamente) quando comparada com os demais indivíduos da população (Tabela 8).

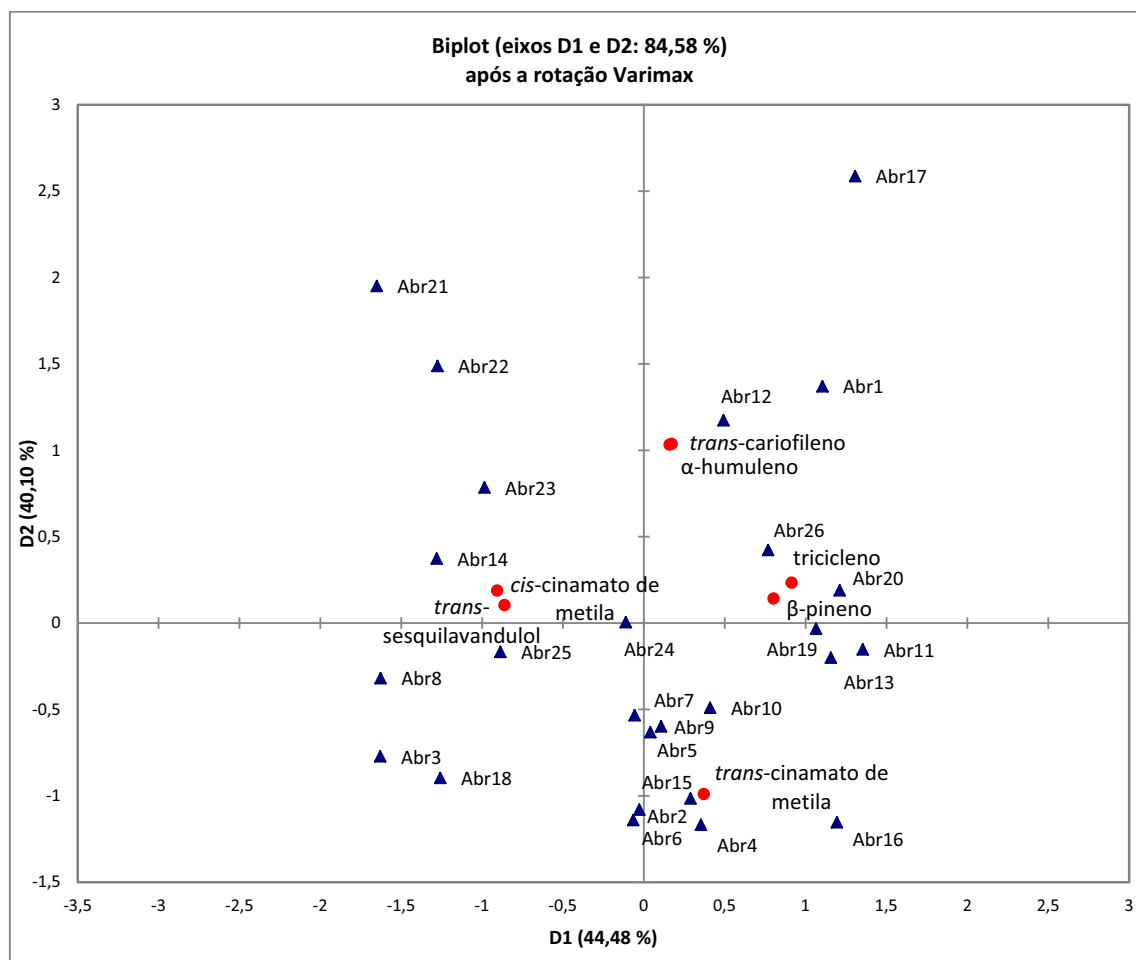


Figura 11: Análise de componentes principais do óleo essencial de *Lychnophora pinaster*, população Areia Branca, Carrancas-MG. Coleta de inverno de 2011.

Dentre os indivíduos coletados no verão pode-se destacar o indivíduo Abr14, o qual foi discriminado pela presença das substâncias *trans*-cariofileno e α -humuleno na ACP, no qual a soma da proporção relativa destas substâncias foi de 41,59%, cujo valor é

significativamente superior aos observado para os demais indivíduos desta população (Tabela 9).

Estas mesmas substâncias foram a responsável pela discriminação do indivíduo Abr17 na coleta realizada no inverno. Porém, na coleta de verão observa-se significativa redução da proporção relativa destas substâncias no óleo essencial deste indivíduo, de 48,84% no inverno para 21,21% no verão, o que indica grande variação na proporção relativa destas substâncias em função da época de coleta.

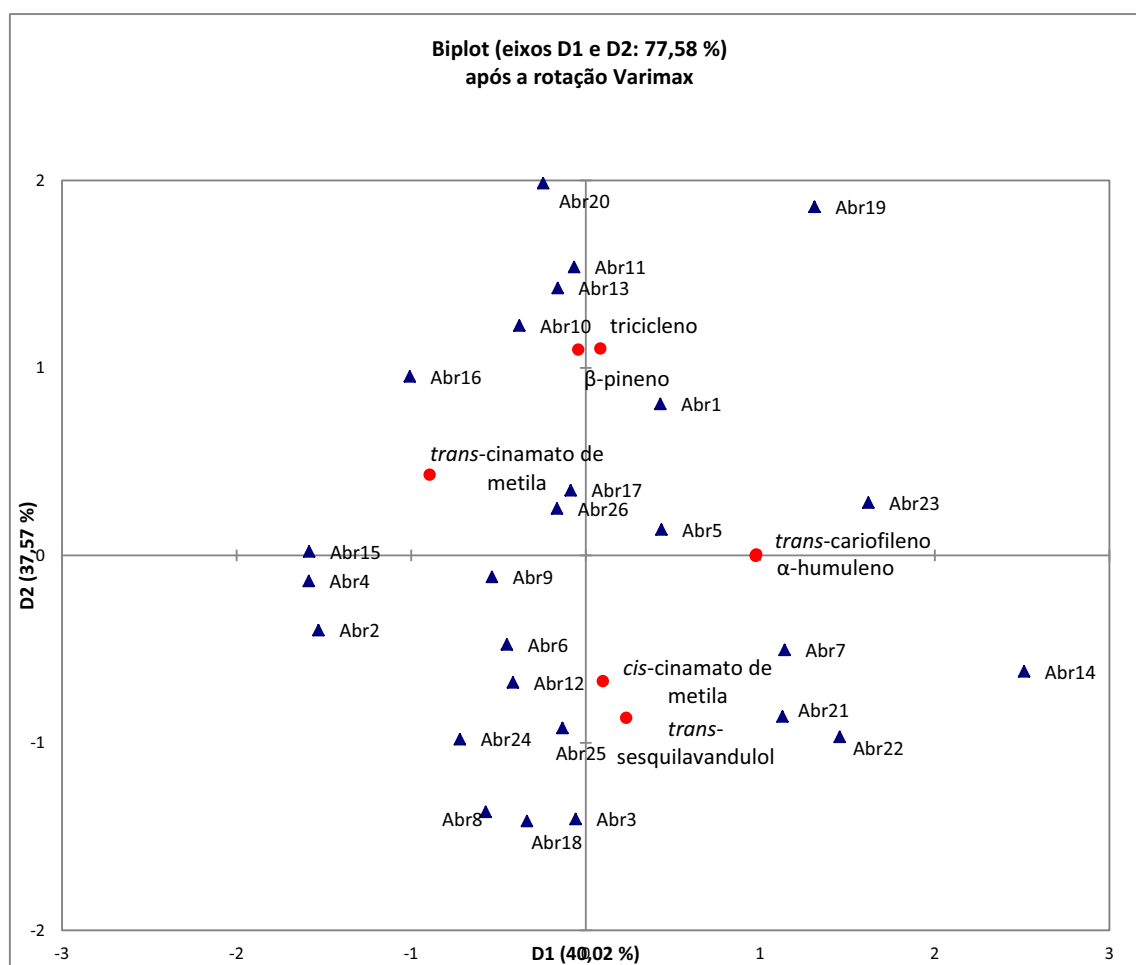


Figura 12: Análise de componentes principais do óleo essencial de *Lychnophora pinaster*, população Areia Branca, Carrancas-MG. Coleta de verão de 2011.

Assim como o observado para as populações Poço Bonito (Lavras-MG) e Serra do Sofá (Itumirim-MG) a síntese do *trans*-cinamato de metila e o *trans*-cariofileno nos óleos essenciais dos indivíduos da população Areia Branca (Carrancas-MG) foi influenciada pela sazonalidade, com maior abundância do *trans*-cinamato de metila no verão e do *trans*-cariofileno no inverno, conforme demonstrado na Figura 13.

Curado et al. (2006) em estudo com duas populações nativas de *L. ericoides* observou polimorfismo entre as populações e também em função do ambiente. A população Vianópolis-GO foi caracterizada pela presença de α -bisabolol e a população Cristalina-GO, caracterizada por (*E*)-nerolidol. Análises de correlação canônica ligam a presença do α -bisabolol e o α -cadinol, ao potencial de acidez do solo, saturação de Al, capacidade de troca catiônica, relação de silt e areia, e a presença de (*E*)-nerolidol ao balanço químico do solo.

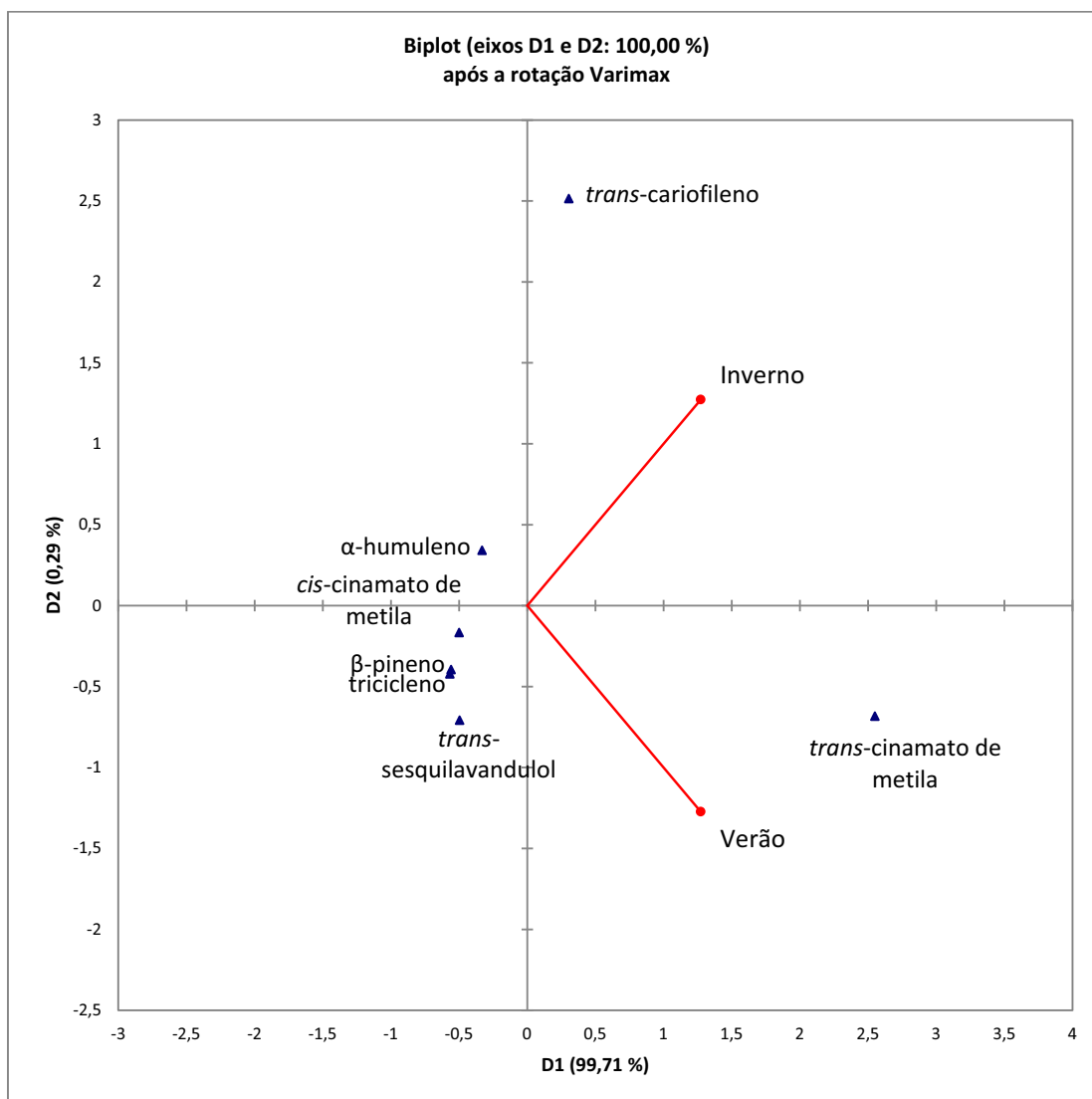


Figura 13: Análise de componentes principais da população Areia Branca, Carrancas-MG. Disposição das substâncias majoritárias em relação ao período de coleta.

Independente da região de ocorrência e sazonalidade, a substância majoritária para os óleos essenciais de todas as populações de *L. pinaster*, foi o *trans*-cinamato de metila, metabólito biossintetizado pela via chiquimato, assim como observado em estudos realizados por Haber (2008) e Reis et al. (2010).

As mudanças quanto à composição química dos fenilpropanóides nos óleos essenciais ocorrem principalmente através da regulação da enzima fenilalanina amonialiase (PAL), responsável pela produção dos metabólitos da via chiquimato. Esta

enzima é o ponto intermediário entre o metabolismo primário e secundário (para a rota metabólica dos fenilpropanóides). Esta enzima é codificada por características multigênicas que controlam caracteres quantitativos, ou seja, a regulação da expressão gênica sofre influência dos fatores ambientais que resulta em um determinado fenótipo (Ziaei et al., 2012; Pires et al., 2011).

Dentre os fatores ambientais que estão relacionados à síntese da PAL incluem idade da planta, fatores de crescimento, herbivoria, danos ao tecido vegetal, ataque de patógenos, irradiação UV e baixa temperatura, porém ainda é difícil determinar a influência exata na quantificação da expressão gênica desta enzima (Ziaei et al., 2012).

Em óleos essenciais, as variações na composição química dos terpenos podem se originar das condições do ambiente e do desenvolvimento da planta, o que dificulta a criação de modelos de produção destes compostos, sob as mais variadas condições ambientais (Paolini et al., 2010; Wang et al., 2012).

Estudos visando à caracterização genética e da composição química dos óleos essenciais de populações nativas de *L. pinaster* realizados por Haber (2008), demonstraram 90% de diversidade genética dentro das populações (Antena, Poço Bonito e Estrada Real) e entre as populações de 9% e que o ambiente exerce influência na composição química dos óleos essenciais.

Baseado no estudo realizado por Haber (2008) pode-se inferir que a diferença encontrada na composição química dos óleos essenciais no presente estudo entre os indivíduos de uma mesma população, para a mesma estação do ano, pode ser atribuída à diferença genética, idade e estágio fenológico entre os indivíduos.

Levando em consideração o fator ambiental, o desenvolvimento de estudos que caracterizem a produção dos óleos essenciais ao longo do tempo auxilia na seleção de material genético para programas de melhoramento e conservação de germoplasma. Como exemplo podemos citar indivíduos com maior concentração de *trans*-cinamato de metila na população Poço Bonito no inverno (Pbo 7, 10, 14, 17) com proporção relativa entre 76,97% a 78,54% e no verão (Pbo 3, 4, 5, 17) com proporção relativa entre 86,52% a 90,10%, notando as diferenças observadas na época de coleta e a substância a qual se tem interesse.

Dentro do gênero *Lychonophora* as espécies *L. pinaster* e *L. ericoides* são comumente confundidas devido ao seu grau de polimorfismo pronunciado. Estudos com a

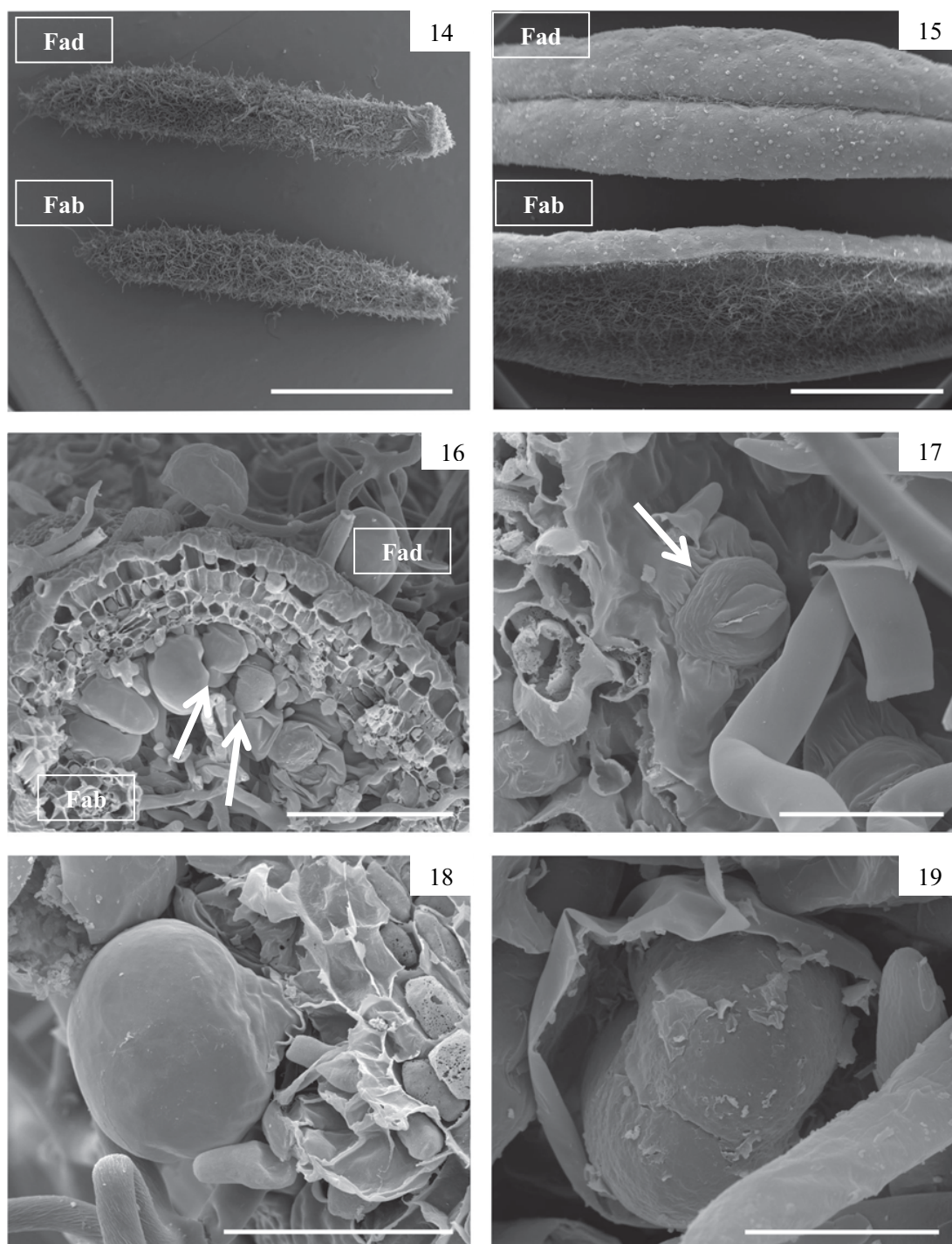
espécie *L. ericoides* mostram que a caracterização química do óleo essencial difere dos encontrados até o momento para populações de *L. pinaster*, descritas por Haber (2008), Reis et al. (2010) e no presente estudo, onde a substância majoritária foi o *trans*-cinamato de metila para as três populações (Poço Bonito, Serra do Sofá e Areia Branca).

É importante observar que apesar do polimorfismo morfológico, as espécies acima citadas são diferentes entre si quanto à composição química dos óleos essenciais, podendo auxiliar na diferenciação das espécies. Em vista desse fato, a caracterização química de populações nativas, sua localização e descrição tanto do seu *habitat* quanto dos aspectos morfológicos levam ao conhecimento da dinâmica das espécies, minimizando possíveis erros de identificação botânica.

6.3. Anatomia foliar de *Lychnophora pinaster* Mart.

Vistas ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), folhas de *L. pinaster*, tanto as jovens como as adultas, exibem indumento formado de tricomas tectores e glandulares em ambas as faces. Folhas jovens exibem maior densidade desses tricomas os quais se distribuem aleatoriamente por toda a extensão da superfície foliar (Figura 14). Em folhas adultas os tricomas glandulares apresentam menor densidade, sendo distribuídos aleatoriamente por toda a superfície foliar, enquanto os tricomas tectores encontram-se concentrados ao longo da nervura impressa na face adaxial e são abundantes e distribuídos aleatoriamente na face abaxial (Figura 15).

Tricomas tectores ramificados foram observados na superfície foliar de *L. pinaster*. Da mesma forma, todos os tricomas glandulares são morfolologicamente semelhantes em toda a superfície, sendo do tipo capitados, embora sejam relativamente maiores na face adaxial (Figura 16). Os tricomas glandulares são ativos em secreção em todas as fases de desenvolvimento da folha, sendo observados lado a lado com cutícula intacta, distendida na região da cabeça, formando um amplo espaço subcuticular (Figura 18), ou tricomas com cutícula rompida, provavelmente devido à liberação da secreção (Figura 19).



Figuras 84 a 19: Eletronmicrografias (MEV) da lâmina foliar de *Lychonophora pinaster*. **Figura 14:** Vista geral de uma folha jovem evidenciando a grande quantidade de tricomas glandulares Barra: 2 mm **Figura 15:** Vista geral de uma folha adulta, evidenciando a menor densidade de tricomas. Barra: 2 mm. **Figura 16:** Secção transversal de folha jovem, notar diferença no estágio de desenvolvimento do tricoma glandular. Barra: 100 μ m. **Figura 17:**

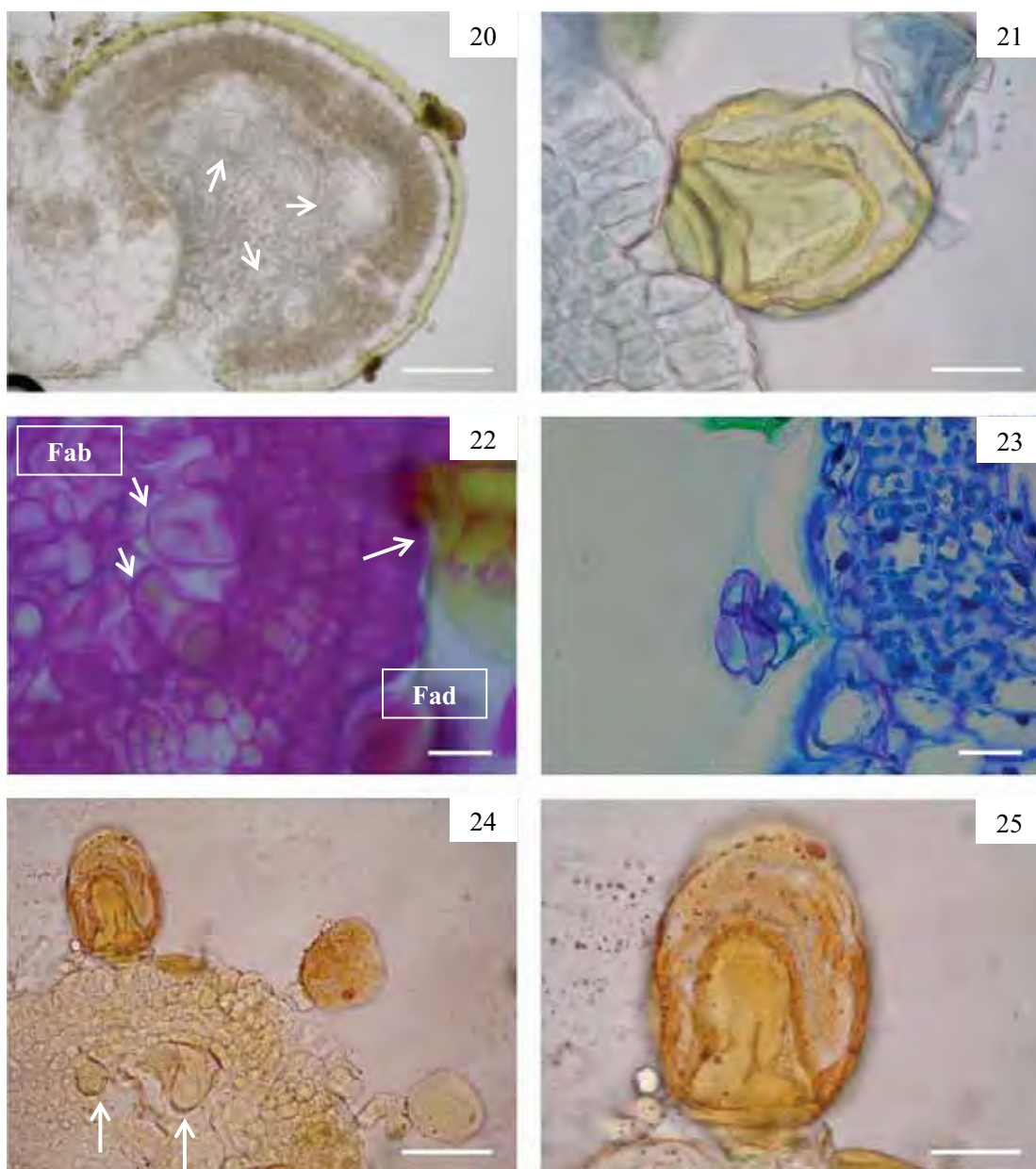
Estômato elevado, localizada na face abaxial. Barra: 20 μm . **Figura 18:** Tricoma glandular presente na face adaxial de folha jovem, notar cutícula expandida. Barra: 50 μm . **Figura 19:** Tricoma glandular presente na face adaxial de folha jovem com cutícula rompida. Barra: 20 μm . **Legenda:** Fad: face adaxial; Fab: face abaxial.

As folhas são hipoestomáticas com estômatos elevados acima do nível das demais células epidérmicas (Figura 17 e 29) e, em secção transversal, exibem epiderme uniestratificada, mesofilo compacto dorsiventral e feixes vasculares colaterais. As células epidérmicas na face adaxial são quadrangulares e volumosas e recobertas por cutícula bastante espessa, enquanto na face abaxial as células são achatadas, menos volumosas e a cutícula é delgada (Figura 29)

Características morfológicas e anatômicas das folhas de espécies de *Lychonophora* foram descritas por Semir (1991) e por Luque et al. (1999), sendo consideradas típicas de plantas adaptadas a ambientes xeromórficos. Com relação à *L. pinaster*, os resultados observados por esses autores foram semelhantes ao descrito no presente trabalho.

Características como epiderme quadrangular volumosa e cutícula espessa na face adaxial também foram descritas por Luque et al. (1999) e são consideradas atributos adaptativos aos ambientes em que as plantas se encontram, apesar deste autor afirmar que as células da epiderme podem variar conforme o tamanho e forma, sendo isométricas, de forma quadrangular.

Os tricomas glandulares são bisseriados e constituídos por 10 células (Figuras 21,23), sendo duas células basais, seis células no pedúnculo, e duas células formando a cabeça secretora, além de cutícula delgada. Conforme anteriormente relatado, é comum a observação de tricomas com a cutícula distendida e secreção acumulada no espaço subcuticular (Figuras 21, 22, 24, 25). Os resultados dos testes histoquímicos encontram-se reunidos na tabela 10.



Figuras 20 a 25: Fotomicrografias de secção transversal de folhas de *L. pinaster* (detalhes apontados com setas). **Figura 20:** Folha adulta, notar presença de tricomas glandulares totalmente desenvolvidos na face abaxial e tricomas glandulares da face adaxial em abscisão. Coloração branco, Barra: 100 μm . **Figura 21:** Tricoma glandular presente na face adaxial de folha jovem. Coloração azul mercúrio de bromofenol. Barra: 20 μm . **Figura 22:** Folha jovem, presença de tricomas glandulares em formação na face abaxial e tricoma glandular desenvolvido na face adaxial. Coloração PAS, Barra: 20 μm . **Figura 23:** Tricoma glandular localizado na face adaxial com cutícula rompida, notar disposição das células que o forma. Coloração azul de toluidina, Barra: 20 μm . **Figura 24:** Folha jovem, presença de tricomas glandulares em formação na face abaxial e tricoma glandular desenvolvido na face adaxial. Coloração sudan IV, Barra: 50 μm . **Figura 25:** Detalhe de tricoma glandular de folha jovem

localizado na face adaxial; notar reação positiva para lipídios através do teste histoquímico com sudan IV (Coloração alarajanda), evidenciando a presença de secreção no espaço cuticular do tricoma. Coloração sudan IV. Barra: 20 μ m. **Legenda:** Fad: face adaxial; Fab: face abaxial.

Na família Asteraceae dois sistemas secretores podem estar relacionados à produção de óleo essencial, os tricomas glandulares e canais secretores (Bartoli et al., 2011). No caso de *L. pinaster* tricomas glandulares capitados presentes na face adaxial e na face abaxial das folhas podem ser responsáveis pela secreção de óleo essencial. Os testes histoquímicos confirmaram a natureza lipofílica da secreção, corroborando com os resultados das análises químicas que indicaram a presença de *trans*-cinamato de metila e *trans*-cariofileno como componentes majoritários do óleo essencial.

Foram observadas diferenças quanto ao tamanho e fase de desenvolvimento de tricomas glandulares em folhas jovens e adultas (Figuras 26 a 29). Em folhas jovens os tricomas glandulares presentes na face adaxial estão totalmente desenvolvidos, ativos em secreção, geralmente com a cutícula distendida, enquanto os tricomas glandulares presentes na face abaxial são menores e as imagens sugerem que os mesmos se encontram em fases iniciais do desenvolvimento (Figuras 26 e 27). Em folhas adultas, os tricomas glandulares presentes na face abaxial exibem características que indicam atividade secretora, principalmente a presença de um amplo espaço subcuticular contendo secreção, sendo que na face adaxial a maioria dos tricomas exibe cutícula rompida, indicando término da atividade secretora (Figuras 28 e 29).

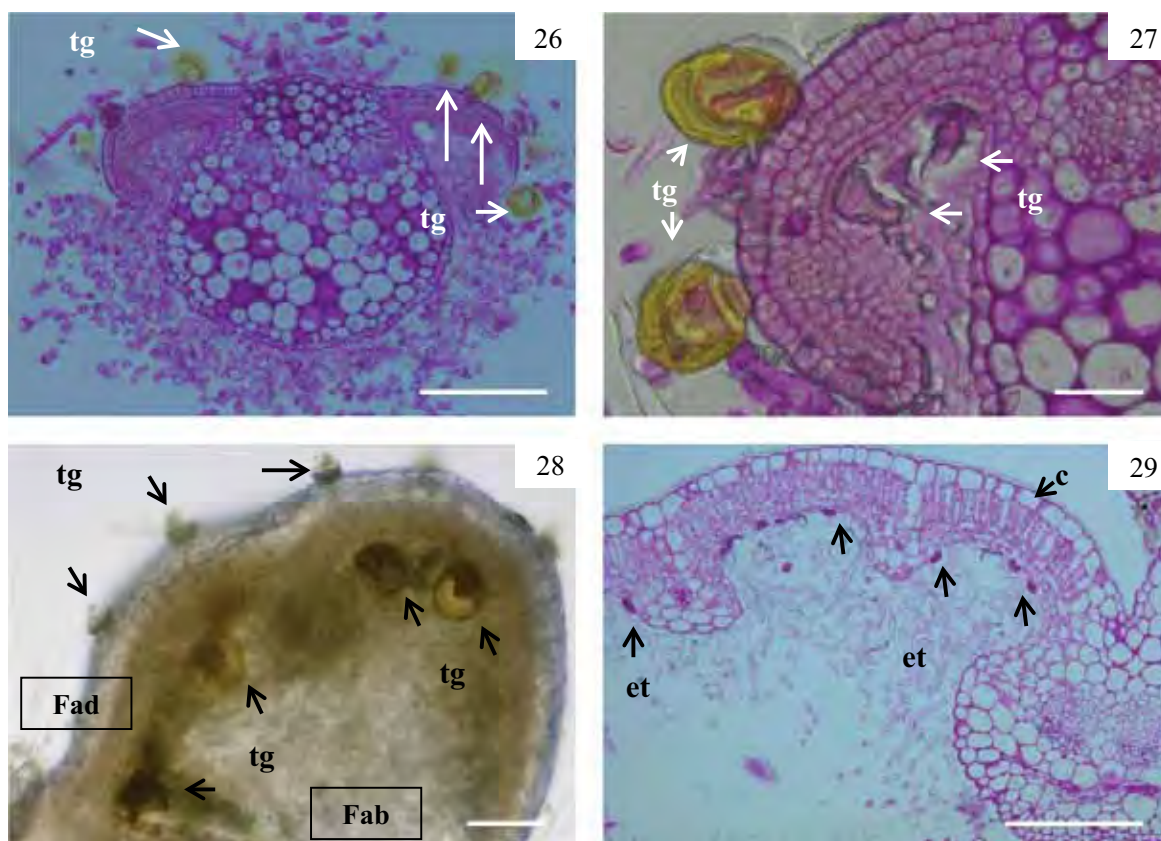


Figura 26 a 29: Fotomicrografias de secção transversal de folha de *L. pinaster*. **Figura 26:** Visão geral de folha jovem, notar a presença de tricomas glandulares desenvolvidos na face adaxial. Coloração PAS. Barra: 200 µm. **Figura 27:** Detalhe de folha jovem, evidenciando a presença de tricomas glandulares na face adaxial totalmente desenvolvidos e na face abaxial tricomas glandulares em desenvolvimento. Coloração PAS. Barra: 50 µm. **Figura 28:** Folha adulta, notar que nesta fase os tricomas glandulares da face abaxial estão desenvolvidos e secretores, com a cutícula distendida já os tricomas glandulares da face adaxial estão, em sua maioria, com a cutícula rompida. Coloração NADI. Barra: 150 µm. **Figura 29:** Detalhe de folha adulta demonstrando a presença dos estômatos e evidenciando a cutícula espessa. Coloração PAS. Barra: 200 µm. **Legenda:** Fad: face adaxial; Fab: face abaxial; tg: tricoma glandular; et: estômatos; c: cutícula.

A diminuição da densidade de tricomas glandulares também foi observada por Werker et al. (1993) em folhas de *Ocimum basilicum* L.. Essa informação pode ser indicativa de maior rendimento de óleo essencial em folhas jovens, as quais apresentam

maior densidade de tricomas. Além disso, os resultados também sugerem que os tricomas da face abaxial e adaxial se desenvolvem e apresentam atividade secretora em períodos distintos. Em folhas jovens os tricomas da face adaxial apresentam características que indicam maior atividade secretora, enquanto em folhas adultas os tricomas da face abaxial é que aparentam estar ativos em secreção.

Segundo Ambrósio et al. (2008), a densidade e localização de tricomas estão relacionadas ao potencial de repelência à herbívoros para a espécie *Tithonia diversifolia*, também pertencente a família Asteraceae. Segundo os autores as secreções existentes nestes tricomas são majoritariamente constituídas de lactonas sesquiterpênicas. Estas substâncias com conhecida ação deterrente e de repelência, também estão presentes no gênero *Lychnophora* segundo trabalho descritos por diversos autores como Bohlmann et al. (1982). Na espécie *Tithonia diversifolia* os tricomas glandulares foliares estão presentes na face abaxial, levando a uma preferência de larvas de *Chlosyne lacinia* a raspar a superfície da face adaxial, sem transpassar a folha.

As diferenças no desenvolvimento dos tricomas glandulares em *L. pinaster* podem estar associadas ao aspecto de proteção quanto à herbivoria para proteção das folhas jovens que são mais tenras e sem o aspecto coriáceo de folhas adultas, sendo necessários estudos futuros que possam elucidar sobre o desenvolvimento dos tricomas glandulares desta espécie.

Informações que possam agregar conhecimento a respeito da formação de tricomas glandulares em relação à produção do óleo essencial de *Lychnophora pinaster* são importantes, pois podem ajudar a delimitar qual a melhor época de colheita em função da densidade de tricomas glandulares existentes.

Quanto aos aspectos taxonômicos do gênero *Lychnophora*, em relação à morfologia das estruturas secretoras, são necessários estudos futuros que melhor caracterizem o desenvolvimento foliar e esclarecer se há em *L. ericoides* o mesmo padrão de desenvolvimento dos tricomas glandulares que em *L. pinaster*. Estas informações são importantes para a caracterização das espécies, uma vez que o padrão pode vir a ser diferente já que a composição química dos óleos essenciais entre estas espécies divergem, como relatado no estudo realizado por Curado et al. (2006) com *L. ericoides*.

Na tabela 10, estão relacionados os testes histoquímicos realizados, os principais resultados obtidos e as regiões onde, quando positiva, ocorreu a reação esperada, sendo observada a presença, dentre outras, de óleos essenciais e óleoresinas.

Tabela 10: Testes histoquímicos realizados em folhas de *L. pinaster*.

Reagente	Substância marcada	Reação	Local da reação
Acetato de cobre 7%	Resinas	-	
Ácido tânico/Cloreto de ferro III	Mucilagem	-	
Azul mercúrio de bromofenol	Proteínas	+	Núcleo/Citoplasma
		+	Tricomas glandulares de ambas as faces foliares
Cloreto férrico III Dragendorff	Compostos fenólicos	-	
Fehling	Alcalóides	-	
Lugol	Açúcares redutores	-	
	Amido	-	Tricomas
		+	Mesofilo foliar
NADI	Óleos essenciais/óleoressinas	+	Cabeça secretora dos tricomas glandulares de ambas as faces foliares
PAS	Polissacarídeos gerais	+	Parede celular
Sudan Black B	Lipídeos totais	+	Cutícula
		+	Tricomas glandulares de ambas as faces foliares
Sudan IV	Lipídeos totais	+	Cutícula
		+	Secreção e interior dos tricomas glandulares de ambas as faces foliares
		+	Parede celular
Vermelho de rutênio	Pectinas	+	Parede celular

7. CONCLUSÕES

- O rendimento médio dos óleos essenciais dentro das populações não foi influenciado pela época de colheita. Entre as populações, a população Areia Branca (Carrancas-MG) apresentou menor rendimento em relação às populações Poço Bonito (Lavras-MG) e Serra do Sofá (Itumirim-MG), que estatisticamente não apresentaram diferença entre si.
- As substâncias majoritárias para os óleos essenciais das populações de *L. pinaster* foram o *trans*-cinamato de metila e o *trans*-cariofileno.
- A composição química dos óleos essenciais dos indivíduos de *L. pinaster* dentro e entre as populações foi divergente.
- A sazonalidade influenciou a composição química dos óleos essenciais das populações de *L. pinaster*, sendo as maiores proporções relativas de *trans*-cinamato de metila obtidas na coleta de verão e de *trans*-cariofileno de inverno.
- Segundo a caracterização da anatomia foliar, a *Lychnophora pinaster* apresenta caracteres xeromórficos, como ser hipostomáticas, cutícula grossa, alta densidade de tricomas tectores na face abaxial.

- Os tricomas glandulares presentes nas folhas possuem a mesma morfologia tanto na face adaxial quanto na face abaxial. A análise de folhas jovens e adultas apontaram diferenças quanto ao desenvolvimento dos tricomas glandulares, em função do desenvolvimento foliar.
- As análises histoquímicas foram positivas em geral para substâncias de origem lipídica, como os lipídios e óleo essencial.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. **Identification of Essential Oils Components by Gas chromatography/Mass Spectrometry**, 4. ed. Illinois USA: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.

ALMEIDA S.P. et al.. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.

AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.16, n. 2, p.189-203, 2002.

BARTOLI, A. GALATI, B.G.; TORTOSA, R.D. Anatomical studies of the secretory structures: glandular trichomes and ducts, in *Grindelia pulchella* Dunal (Astereae, Asteraceae). **Flora**, Jena, v.206, p. 1063-1068, 2011.

BEEBE, K.R.; PELL, R.J.; SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics**: a practical guide. New York: John Wiley & Sons Inc.,1998. 348p.

BOHLMANN, F. et al. Germacranolides from *Lychnophora* species. **Phytochemistry**, New York, v. 21, p. 1087-1091, 1982.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.55, n.3, p.37-39, 2003.

COILE, N.C.; JONES, J.R. *Lychnophora* (Compositae: Vernonieae), a genus endemic to the Brazilian planalto. **Brittonia**, New York, v.33, n.4, p. 528-542, 1981.

COPAM - CONSELHO DE POLÍTICA AMBIENTAL. **Lista das espécies ameaçadas de extinção da flora do Estado de Minas Gerais**. Deliberação COPAM 85/97. 2000.

CURADO, M.A. et al. Environmental factors influence in chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. **Phytochemistry**, New York, v. 67, p. 2363-2369, 2006.

DAVID, R.; CARDE, J.P. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du pin maritime au moyen du reactif Nadi. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, Paris, v. 258, p. 1338-1340, 1964.

DOP, P.; GAUTIER, A. **Manuel de technique botanique**. Paris: J. Lamarre, 1928. 591 p.

FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist**. Lancaster, v. 108, p. 229-257. 1988.

FERREIRA, A.A. et al. Constituents of *Lychnophora pinaster* hydroalcoholic extract. **Chemistry of Natural Compounds**, New York, v. 41, n. 4, p. 466, 2005.

GONÇALVES, E.G.; LORENZI, H. **Morfologia Vegetal: Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2007. 446p.

GONZALEZ, A.M.; ARBO, M.M. Trichome complement of *Turnera* and *Piriqueta* (Turneraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**. London, v. 144, p. 85-97, 2004.

GRAEL, C.F.F. et al. A study of the trypanocidal and analgesic properties from *Lychnophora granmangolense* (Duarte) Semir & Leitão Filho. **Phytotherapy Research**, London, v.14, p. 203-206, 2000.

GRAEL, C.F.F.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, J.L.C. Chemical constituents of *Lychnophora pohlii* and trypanocidal activity of crude plant extracts and of isolated compounds. **Fitoterapia**, Milano, v. 76, p. 73-82, 2005.

HABER, L. **Caracterização da diversidade genética via marcador microssatélite, e constituintes do óleo essencial de *Lychnophora pinaster* Mart.** 2008. 151 p. Tese (Doutorado em Agronomia – Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas/Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

HUANG, Q. et al. Inhibitory effects of methyl *trans*-cinnamate on mushroom tyrosinase and its antimicrobial activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, p.2565-2569, 2009.

JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry: principle and practice**. San Francisco: W.H Freeman, 1962. 408 p.

JOHANSEN, D.A. **Plant micro technique**. New York: McGraw-Hill, 1940, 523 p.

LUQUE, R.; MENEZES, N.L.; SEMIR, J. Anatomía foliar de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Asteraceae). **Plantula**, Mérida, v. 2, n. 3, p. 141-152, 1999.

MATTANA, R.S. **Produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial e plasticidade foliar em plantas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. cultivadas sob diferentes níveis de sombreamento**. 2005. 108 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia –

Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

MAZIA, D.; BREWER P.A.; ALFERT, M. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. **Biological Bulletin**, Woods Hole., v. 104, p. 57-67, 1953.

McLEAN, R.C.; IVIMEY-COOK, W.R. **Plant science formulae**. London: Mc Millan & Co., London, 1958. 205 p.

McMANUS, J.F.A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology**, Baltimore, v. 23, p. 99-108, 1948.

MELO, P.R.B. **Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) coletados em diferentes estádios de maturação**. 2005. 79 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MEYER, B.NN et al., Brine shrimp: a conveniente generak bioassay for active plants constituents. **Planta Medica**, Stuttgart, v.45, p.31-34, 1982.

MORAIS, L.A.S. **Adubação e sazonalidade na produção de fitomassa, metodologia de extração, rendimento e qualidade do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth**. 2003. 253 p. Tese (Doutorado em Agronomia – Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas/Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

O'BRIEN, T.P.; FEDERM N.; McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cellular wall by toluidine blue. **Protoplasma**, v.59, p.368-373, 1964.

OLIVEIRA, A.B. et al. Trypanocidal sesquiterpenes from *Lychnophora* species. **Phytotherapy Reasearch**. London, v. 10, p.292-293. 1996.

OLIVEIRA JÚNIOR, A.C. **Calagem e adubações orgânica e mineral no crescimento de mudas e no teor e rendimento de óleo essencial da arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.)**. 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

OLIVEIRA JÚNIOR; A.C.; FAQUIN, V.; PINTO, J.E.B.P. Efeitos de calagem e adubação no crescimento e nutrição de arnica. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, n. 3, p. 347-351, 2006.

OLIVEIRA JÚNIOR, A.C. et al. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 735-739, 2005.

PAOLINI, J. et al. Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, p. 865-874, 2010.

PARON, M.E.; MING, L.C.; SOUZA, L.A. Enraizamento de estacas de *Lychnophora pinaster* Mart. em ácido indol-butírico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOLOGIA VEGETAL, 9, 2003, Atibaia, **Anais...**, Atibaia:SBFV, 2003.

PINHEIRO, R.C. **Abordagem fitoquímica, rendimento de óleo essencial de *Lychnophora pinaster* Mart. utilizando dois métodos de secagem.** 2002. 41 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

PIRES, I. E. et al., **Genética Florestal**. Viçosa: Arka, 2011. 318 p.

PIZZOLATO, T.D.; LILLIE, R.D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **Journal Histochemistry e Cytochemistry**. Philadelphia, v. 21, p. 56-64. 1973.

REIS, E.S. et al. Seasonal variation in essential oils of *Lychnophora pinaster* Mart. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, p. 147-149, 2010

REIS, M.S.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O. et al. org. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. UFSC, 2001. p. 41-62.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T.. 1998. Fitofisionomia do bioma cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. eds. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa/CPAC. 1998. p. 89-166.

ROBARDS A.W. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: **Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells**. New York: Elsevier, 1978.

RODRIGUES, V.E.G. **Levantamento florístico e etnobotânico de plantas medicinais dos cerrados na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais**. 1988. 235 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1988.

SANTOS, M.R.A. INNECCO, R. SOARES, M.A. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Revista Ciência Agronômica**. Fortaleza, n. 35, 377-383 p., 2004.

SEMIR, J. **Revisão taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernoniaceae: Compositae)**. 1991. 515p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade de Campinas, Campinas, 1991.

SCHEFFER, M.C.; MING, L.C.; ARAÚJO, A.J. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. In: QUEIRÓZ, M.A.; GOEDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Eds.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. (on-line). Petrolina, Embrapa Semi-Árido/Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 1999. Disponível em: <<http://www.cpatsa.embrapa.br>> Acesso em: 6 de abril de 2012.

SCHMIDT, K.B., LIANZA, S. Teste de condução de ondas ultrassônicas pelo fitomedicamento creme de *Cordia verbenacea*. **Revista Medicina de Reabilitação**, São Paulo, v. 29, n. 3, 65-68 p., 2010.

SHANJANI, P.S. et al. Effects drying and harvest season on the essential oil composition from foliage and berries of *Juniperus excelsa*. **Industrial Crops and Products**, Netherlands, v. 32, p. 83-87, 2010.

SILVA, L.M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V.J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 19, n. 1, 183-194 p., 2005.

SILVA, S.M.P. **Aspectos da fenologia e da reprodução sexuada da arnica (*Lychnophora pinaster* – Mart.) – Asteraceae**. 1994. 45 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1994.

SILVA, L.P. **Ação antiespasmódica do *trans*-cariofileno e o bloqueio de canais para Ca^{2+} em músculo liso traqueal de rato**. 2010. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2010.

SILVEIRA, D. et al. Biological activity of the aqueous extract of *Lychnophora pinaster* Mart. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, n. 4, p. 294-297, 2005a.

SILVEIRA, D. et al. Lychnophoric acid from *Lychnophora pinaster*: a complete and unequivocal assignment by NMR spectroscopy. **Eclética Química**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 37-41, 2005b.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. 2003. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. org. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ª ed. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre e Florianópolis, Brasil. 2003.

SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL. **Centuria Plantarum Brasiliensium extinctionis minitata**. Brasília, 1992. 167p.

SOUZA, A.V. **Propagação In Vitro e aspectos anatômicos de arnica (*Lychnophora pinaster*) MART**. 2003. 127 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

TAKEARA, R. et al. Trypanocidal activity of *Lychnophora staavioides* Mart. (Vernonieae, Asteraceae). **Phytomedicine**, Stuttgart, v.10, p.490-493, 2003.

TAMAYO, L.M.A., GONZÁLEZ, D.M.A., GARCÉS, Y.J. Propiedades farmacológicas del Algarrobo (*Hymenaea courbaril* Linneaus) de interés para la industria de alimentos. **Revista Lasallista de Investigación**, Antioquia, v. 5, n. 2, 100-111 p., 2008.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D.J. A generalization of the relation index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**. v.11, 1963. p. 463-467

VENTRELLA, M.C. Anatomia quantitativa e produção de óleo essencial de folhas de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. em diferentes níveis de inserção no caule. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 12, 1998, Piracicaba, **Anais...**, Piracicaba: SBSP, 1998. p. 57

VENTRELLA, M.C. **Produção de folhas, óleo essencial e anatomia foliar quantitativa de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita.** 2000. 95 p. Tese (Doutorado em Agronomia – Horticultura) – Faculdade de Ciência Agrônômica/Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular Plant**, Oxford, v.3, n. 1, p.2-20, 2010.

WAGNER, G.J.; WANG, E.; SHEPHERD, R.W. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. **Annals of Botany**, London, n. 93, p. 3-11, 2004.

WANG, H. et al. Comparative seasonal variation and chemical composition of essential oils from the leaves and stems of *Schefflera heptaphylla* using microwave-assisted and conventional hydrodistillation. **Industrial Crops and Products**, Netherlands, v. 36, p. 229-237, 2012.

WERKER, E. et al. Glandular hair and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Annals of Botany**. London, n. 71, p. 43-50, 1993.

ZIAEI, M. et al. Gene expression and activity of phenyl alanine amonialyase and essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. at different growth stages. **Iranian Journal of Biotechnology**, Tehran, v. 10, n. 1, p. 32-39, 2012.

9. APÊNDICES

APÊNDICE 1: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Poço Bonito, município de Lavras-MG, coleta de inverno de 2011.

Substância	Pbo1	Pbo2	Pbo3	Pbo4	Pbo5	Pbo6	Pbo7	Pbo8	Pbo9	Pbo10
trícicleno	0,16	0,48	0,63	0,51	0,43	0,25	0,23	0,22	1,17	0,51
canfeno	0,02	nc	0,02	0,02	0,02	tr	0,03	0,02	nc	0,02
benzaldeído	nc	0,03	tr	0,03	0,09	tr	0,03	0,07	tr	0,03
β-pineno	0,14	0,51	0,45	0,97	1,04	0,23	0,38	0,22	2,12	0,87
p-cimeno	0,03	0,03	0,20	0,10	tr	0,08	nc	0,03	0,12	tr
silvestreno	tr	0,14	0,34	0,34	0,07	0,15	0,03	0,12	0,32	0,14
cis-β-ocimeno	0,03	0,03	0,15	tr	0,02	tr	nc	tr	nc	0,02
trans-β-ocimeno	0,07	0,03	0,43	tr	tr	tr	0,03	tr	tr	0,02
γ-terpineno	0,19	0,21	0,69	0,49	0,03	0,30	0,07	0,29	0,37	0,16
nd1	0,03	0,02	tr	tr	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03	tr
terpinen-4-ol	0,35	0,27	0,92	0,32	0,02	0,34	0,15	0,41	0,48	0,31
α-terpineol	0,03	nc	tr	nc	nc	nc	nc	nc	0,03	0,03
cis-cinamato de metila	0,10	0,06	tr	0,15	0,27	0,43	0,18	0,10	0,33	0,66
trans-cinamato de metila	74,11	69,13	62,25	63,94	71,86	70,51	78,55	74,44	64,99	78,49
trans-cariofileno	16,31	20,61	25,01	24,31	18,79	19,83	13,40	16,94	21,49	12,45
α-humuleno	4,89	5,87	7,18	6,47	5,30	5,57	4,06	4,95	5,92	3,52
óxido de cariofileno	tr	0,16	0,09	tr	0,08	0,11	0,07	tr	0,21	0,10
nd2	1,09	1,17	0,90	1,12	0,94	1,14	1,17	1,12	1,27	1,34
khusimona	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
nd3	0,38	0,33	0,30	0,27	0,29	0,28	0,35	0,27	0,30	0,38
nd4	0,27	0,18	tr	tr	tr	tr	0,14	0,13	tr	0,13
nd5	0,50	0,34	tr	0,12	0,22	0,21	0,25	0,23	0,16	0,31
nd6	0,70	0,53	0,17	0,32	0,39	0,49	0,42	0,38	0,43	0,58

APÊNDICE 1: Continuação.

Substância	Pbo11	Pbo12	Pbo13	Pbo14	Pbo15	Pbo16	Pbo17	IRc	IRI
Triciclono	1,47	5,47	0,30	tr	0,08	0,81	0,41	932	926
Canfeno	0,02	0,17	nc	nc	nc	nc	nc	946	954
Benzaldeído	0,07	tr	tr	nc	nc	nc	nc	955	960
β -pineno	3,33	8,90	0,22	tr	0,11	1,37	0,25	975	979
p -cimeno	tr	0,13	tr	nc	tr	0,18	0,14	1022	1024
Silvestreno	0,34	1,20	0,24	0,03	0,08	0,33	0,24	1026	1027
<i>cis</i> - β -ocimeno	0,08	0,31	0,02	nc	0,02	tr	0,03	1034	1037
<i>trans</i> - β -ocimeno	0,21	0,69	tr	0,02	0,03	0,09	0,07	1045	1050
γ -terpineno	0,07	0,38	0,35	0,03	0,20	0,38	0,45	1056	1059
nd1	0,15	0,07	tr	0,09	0,03	tr	tr	1086	-
terpinen-4-ol	0,08	0,27	0,44	0,11	0,21	0,57	0,61	1174	1177
α -terpineol	0,10	0,24	nc	0,07	tr	tr	0,03	1188	1188
<i>cis</i> -cinamato de metila	0,02	nc	0,46	0,34	0,65	tr	0,17	1301	1299
<i>trans</i> -cinamato de metila	70,79	46,20	68,49	76,98	68,75	72,34	79,72	1381	1378
<i>trans</i> - cariofileno	17,03	27,68	21,31	15,58	20,54	16,53	12,84	1419	1419
α -humuleno	4,89	7,06	5,90	4,54	6,04	4,83	3,75	1452	1454
óxido de cariofileno	tr	tr	0,09	0,14	0,17	tr	0,11	1550	1581
nd2	0,84	0,66	0,93	0,81	1,57	1,38	0,74	1581	-
Khusimona	0,07	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1596	1604
nd3	0,23	0,14	0,23	0,27	0,41	0,36	0,15	1607	-
nd4	tr	tr	tr	0,09	0,12	tr	tr	1615	-
nd5	tr	tr	0,21	0,09	0,29	0,26	tr	1630	-
nd6	0,17	tr	0,33	0,26	0,61	0,35	0,14	1634	-

Legenda: nd: substância não identificada; tr: traço da substância, valor padronizado de 0,04 %; nc: não consta a substância analisada para a determinada amostra, valor padronizado 0,01%.

APÊNDICE 2: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Serra do Sofá, município de Itumirim-MG, coleta de inverno de 2011.

Substância	Sso1	Sso2	Sso3	Sso4	Sso5	Sso6	Sso7	Sso8	Sso9	Sso10
tricicleno	0,70	1,32	1,01	1,63	0,33	0,76	3,75	2,71	0,21	0,75
canfeno	nc	0,02	nc	0,02	nc	0,56	tr	tr	nc	0,02
benzaldeído	nc	0,03	nc	tr	nc	nc	tr	tr	nc	0,03
β-pineno	1,02	2,14	1,27	2,31	0,29	1,02	4,19	4,27	0,20	0,73
ρ-cimeno	nc	tr	tr	0,13	0,17	nc	0,23	0,10	tr	0,12
silvestreno	tr	0,32	0,26	0,43	0,23	tr	0,64	0,31	0,07	0,26
cis-β-ocimeno	nc	nc	nc	0,02	tr	nc	0,03	0,02	0,03	nc
trans-β-ocimeno	nc	0,03	0,03	tr	0,23	nc	tr	tr	nc	tr
γ-terpineno	0,02	0,07	0,27	0,51	0,46	0,03	0,26	0,20	0,29	0,22
nd1	0,09	tr	tr	tr	tr	nc	tr	0,09	tr	tr
terpinen-4-ol	0,05	0,17	0,49	0,61	0,72	tr	0,36	0,30	0,44	0,44
α-terpineol	nc	tr	tr	tr	nc	tr	0,24	tr	nc	tr
cis-cinamato de metila	0,14	0,54	0,76	0,40	tr	1,37	0,17	0,44	1,01	0,87
trans-cinamato de metila	72,20	67,59	69,64	52,32	63,57	69,90	64,26	63,90	57,22	75,47
trans-cariofileno	17,25	19,81	18,69	31,40	24,57	16,78	18,75	20,18	28,73	15,04
α-humuleno	5,15	5,51	5,55	8,72	7,09	4,84	5,23	5,54	8,29	4,22
óxido de cariofileno	tr	0,16	0,18	tr	tr	0,35	0,15	tr	0,25	0,14
nd2	1,76	1,16	1,05	0,94	1,35	1,98	0,78	1,17	1,63	0,88
khusimona	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
nd3	0,41	0,28	0,29	0,22	0,37	0,43	0,22	0,26	0,43	0,28
nd4	0,21	0,17	tr	tr	tr	0,07	tr	tr	0,16	tr
nd5	0,34	0,27	0,11	tr	0,20	0,38	tr	tr	0,37	0,20
nd6	0,56	0,46	0,34	0,22	0,42	0,86	tr	0,25	0,74	0,38

APÊNDICE 2: Continuação.

Substância	Sso11	Sso12	Sso13	Sso14	Sso15	Sso16	Sso17	Sso18	Sso19	Sso20
trícicleno	0,84	nc	1,54	0,69	0,40	0,76	4,83	0,54	0,80	1,22
canfeno	nc	nc	0,02	nc	nc	nc	tr	tr	nc	tr
benzaldeído	tr	nc	0,03	tr	nc	nc	tr	tr	tr	tr
β-pineno	1,42	nc	2,67	0,75	0,49	1,28	6,75	0,59	0,57	1,80
p-cimeno	tr	nc	0,34	0,13	tr	0,18	0,55	tr	0,53	0,46
silvestreno	0,14	0,02	0,44	0,18	0,10	0,29	0,90	tr	0,45	0,50
cis-β-ocimeno	nc	nc	0,02	0,02	nc	nc	tr	nc	nc	nc
trans-β-ocimeno	tr	nc	0,02	0,03	nc	tr	0,12	nc	nc	tr
γ-terpineno	tr	nc	0,57	0,18	0,21	0,51	0,89	0,07	0,79	0,75
nd1	tr	nc	0,06	0,03	0,03	0,18	0,18	tr	tr	tr
terpinen-4-ol	0,14	nc	0,95	0,24	0,28	0,74	0,80	0,22	1,28	1,18
α-terpineol	tr	nc	tr	0,03	nc	tr	tr	tr	tr	tr
cis-cinamato de metila	0,42	0,47	0,88	0,47	0,94	0,54	0,93	1,08	0,96	1,60
trans-cinamato de metila	67,37	61,31	55,25	50,15	77,31	65,64	40,74	71,03	64,20	54,31
trans-cariofileno	20,67	25,40	27,52	35,58	14,08	21,22	31,41	16,99	21,74	27,92
α-humuleno	5,73	6,88	7,79	9,51	4,14	6,12	8,15	4,73	6,30	7,72
óxido de cariofileno	0,17	0,34	0,19	0,22	0,12	0,13	tr	0,24	0,25	0,36
nd2	1,72	1,63	1,21	1,08	1,01	1,35	0,61	1,13	1,25	1,29
khusimona	tr	0,11	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
nd3	0,39	0,51	0,27	0,28	0,28	0,32	tr	0,31	0,31	0,34
nd4	0,07	0,30	tr	tr	tr	0,07	tr	tr	tr	tr
nd5	0,29	0,79	tr	0,17	0,21	0,21	tr	0,17	0,15	0,10
nd6	0,53	1,29	0,27	0,34	0,43	0,42	tr	0,43	0,43	0,47

APÊNDICE 2: Continuação.

Substância	Sso21	Sso22	Sso23	Sso24	Sso25	Sso26	Sso27	Sso28	Sso29	IRc	IRI
trícicleno	0,66	0,61	1,25	1,33	0,97	0,41	0,10	0,99	1,80	932	926
canfeno	nc	nc	0,02	nc	nc	nc	nc	nc	tr	946	954
benzaldeído	tr	nc	0,03	tr	0,03	nc	nc	tr	0,31	955	960
β-pineno	0,64	1,14	1,79	1,71	1,46	0,55	0,07	1,31	2,06	975	979
p-cimeno	0,30	tr	tr	tr	tr	nc	nc	0,06	0,14	1022	1024
silvestreno	0,41	0,10	0,22	0,29	0,25	0,19	0,12	0,25	0,37	1026	1027
cis-β-ocimeno	nc	nc	nc	tr	0,02	nc	nc	nc	nc	1034	1037
trans-β-ocimeno	tr	tr	0,02	0,14	tr	nc	tr	0,03	0,10	1045	1050
γ-terpineno	0,77	tr	0,10	tr	0,09	0,08	0,14	0,29	0,37	1056	1059
nd1	tr	nc	0,03	tr	0,03	tr	tr	0,02	tr	1086	-
terpinen-4-ol	0,91	tr	0,14	0,19	0,18	0,20	0,25	0,17	0,59	1174	1177
α-terpineol	0,03	tr	0,03	tr	tr	0,02	nc	0,02	0,08	1188	1188
cis-cinamato de metila	0,61	0,57	0,64	0,68	0,63	0,40	0,68	0,35	0,45	1301	1299
trans-cinamato de metila	62,67	73,94	54,92	66,81	64,21	69,35	68,97	44,17	64,22	1381	1378
trans-cariofileno	23,97	15,10	29,20	17,97	23,00	19,82	20,87	40,77	20,58	1419	1419
α-humuleno	6,66	16,44	8,12	5,68	6,38	5,72	6,04	10,13	5,88	1452	1454
óxido de cariofileno	tr	0,20	0,23	0,23	0,20	0,19	0,20	0,13	tr	1550	1581
nd2	1,02	1,33	1,82	0,97	1,31	1,22	1,30	0,72	0,57	1581	-
khusimona	tr	tr	tr	tr	0,08	tr	tr	tr	0,16	1596	1604
nd3	0,16	0,39	0,43	0,24	0,32	0,33	0,33	0,15	0,08	1607	-
nd4	tr	0,22	0,08	tr	0,08	0,21	0,16	tr	tr	1615	-
nd5	tr	0,40	0,33	0,18	0,23	0,32	0,23	0,09	tr	1630	-
nd6	0,29	0,72	0,62	0,35	0,45	0,59	0,45	0,21	tr	1634	-

Legenda: nd: substância não identificada; tr: traço da substância, valor padronizado de 0,04 %; nc: não consta a substância analisada para a determinada amostra, valor padronizado 0,01%.

APÊNDICE 3: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Areia Branca, município de Carrancas-MG, coleta de inverno de 2011.

Substância	Abr1	Abr2	Abr3	Abr4	Abr5	Abr6	Abr7	Abr8	Abr9	Abr10
tricicleno	0,75	0,50	tr	0,33	0,27	0,27	tr	tr	0,29	0,67
canfeno	nc	0,03	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
benzaldeído	tr	tr	0,41	0,02	nc	tr	tr	tr	tr	tr
β-pineno	1,20	0,89	tr	0,27	0,23	0,25	tr	tr	0,18	1,14
ρ-cimeno	tr	0,02	tr	tr	0,08	0,18	tr	tr	tr	tr
silvestreno	0,19	tr	tr	0,17	0,12	tr	tr	tr	tr	tr
cis-β-ocimeno	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	tr	nc	nc
trans-β-ocimeno	0,03	nc	0,02	nc	nc	nc	nc	tr	nc	nc
γ-terpineno	0,21	0,02	tr	0,29	0,28	0,23	tr	tr	tr	tr
nd1	tr	nc	tr	nc	0,03	nc	nc	tr	tr	tr
terpinen-4-ol	0,24	tr	tr	0,48	0,44	0,49	0,11	tr	0,48	0,32
α-terpineol	tr	tr	tr	nc	nc	nc	nc	tr	nc	nc
cis-cinamato de metila	tr	2,61	6,67	0,41	1,09	1,27	0,59	5,43	0,38	1,89
trans-cinamato de metila	54,91	70,21	61,07	75,10	69,60	73,02	69,68	58,08	68,46	66,25
trans-cariofileno	29,46	13,41	14,05	15,81	18,17	14,93	20,14	16,75	18,31	16,89
α-humuleno	8,69	3,85	3,95	4,52	5,39	4,35	5,75	4,77	5,38	4,90
óxido de cariofileno	0,25	0,64	1,62	0,16	0,30	0,30	0,22	1,32	0,30	0,85
nd2	2,13	3,53	5,63	1,30	1,79	2,33	1,85	6,07	2,64	3,14
khusimona	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
nd3	0,52	0,57	0,92	0,29	0,49	0,52	0,38	0,95	0,58	0,68
nd4	0,10	0,17	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,19	tr
nd5	0,40	0,89	1,07	0,28	0,48	0,62	0,36	1,23	0,61	0,86
nd6	0,77	1,94	2,58	0,53	1,00	1,25	0,71	3,23	1,07	1,71

APÊNDICE 3: Continuação.

Substância	Abr11	Abr12	Abr13	Abr14	Abr15	Abr16	Abr17	Abr18	Abr19	Abr20
tricicleno	1,04	0,85	0,74	tr	0,24	0,77	1,09	tr	0,77	0,87
canfeno	nc	tr	nc	nc	tr	nc	nc	nc	nc	nc
benzaldeído	nc	tr	tr	0,29	tr	tr	tr	tr	nc	nc
β -pineno	1,59	1,63	1,47	tr	0,24	1,21	0,98	tr	1,13	1,33
p-cimeno	tr	tr	nc	tr	tr	tr	0,70	tr	tr	0,15
silvestreno	0,23	tr	tr	tr	0,11	0,20	0,72	tr	0,21	0,20
<i>cis</i> - β -ocimeno	nc	nc	nc	nc	nc	nc	tr	nc	nc	nc
<i>trans</i> - β -ocimeno	nc	nc	nc	nc	nc	nc	tr	nc	nc	tr
γ -terpineno	0,22	tr	tr	0,40	0,20	0,25	1,24	tr	0,32	0,19
nd1	nc	tr	0,03	tr	tr	tr	0,13	nc	tr	tr
terpinen-4-ol	0,36	tr	tr	0,56	0,40	0,35	1,49	0,35	0,58	0,44
α -terpineol	tr	tr	tr	tr	nc	nc	tr	nc	nc	nc
<i>cis</i> -cinamato de metila	0,92	3,48	0,51	3,16	tr	0,09	0,92	4,32	0,14	tr
<i>trans</i> -cinamato de metila	66,31	50,77	67,61	52,11	73,26	75,44	40,68	64,84	64,42	63,44
<i>trans</i> -cariofileno	19,47	26,29	19,65	21,06	16,96	14,66	39,41	14,16	20,72	22,13
α -humuleno	5,60	7,19	5,91	6,12	4,74	4,24	9,44	4,10	6,06	6,35
óxido de cariofileno	0,47	1,16	0,22	1,81	0,18	tr	0,40	1,26	0,19	0,08
nd2	1,55	3,82	1,59	6,24	1,75	1,42	0,90	4,38	2,48	2,55
khusimona	tr	tr	tr	tr	tr	0,12	tr	0,12	tr	tr
nd3	0,44	0,72	0,40	1,03	0,42	0,30	tr	0,86	0,61	0,61
nd4	tr	tr	0,17	tr	tr	tr	tr	0,20	0,21	tr
nd5	0,51	0,71	0,39	1,20	0,33	0,26	tr	1,16	0,70	0,49
nd6	0,77	1,83	0,70	3,15	0,62	0,44	tr	2,60	0,66	0,83

APÊNDICE 3: Continuação.

Substância	Abr21	Abr22	Abr23	Abr24	Abr25	Abr26	IRc	IRI
triciclono	tr	tr	tr	0,25	0,23	0,65	932	926
canfeno	nc	nc	nc	nc	nc	nc	946	954
benzaldeído	nc	tr	tr	0,39	0,81	tr	955	960
β-pineno	tr	tr	tr	1,02	0,54	0,47	975	979
p-cimeno	0,20	0,11	tr	tr	0,12	0,43	1022	1024
silvestreno	tr	tr	tr	tr	tr	0,45	1026	1027
cis-β-ocimeno	tr	nc	nc	0,02	tr	nc	1034	1037
trans-β-ocimeno	tr	nc	0,02	0,02	tr	0,03	1045	1050
γ-terpineno	0,12	0,21	tr	tr	tr	0,62	1056	1059
nd1	tr	tr	0,02	tr	tr	tr	1086	-
terpinen-4-ol	0,42	0,49	0,44	tr	0,14	1,15	1174	1177
α-terpineol	nc	0,03	0,02	tr	tr	nc	1188	1188
cis-cinamato de metila	3,54	4,50	3,26	2,28	5,23	tr	1301	1299
trans-cinamato de metila	36,89	43,64	50,36	57,69	57,79	61,52	1381	1378
trans-cariofileno	29,96	28,12	24,79	19,19	17,86	24,51	1419	1419
α-humuleno	8,38	8,13	7,02	5,71	5,10	7,11	1452	1454
óxido de cariofileno	1,94	2,05	1,13	1,90	1,53	0,14	1550	1581
nd2	8,44	6,75	6,54	6,34	5,32	1,34	1581	-
khusimona	0,27	tr	0,14	tr	tr	tr	1596	1604
nd3	1,45	0,97	0,90	0,83	0,78	0,37	1607	-
nd4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1615	-
nd5	1,73	0,93	0,96	0,67	0,73	0,25	1630	-
nd6	4,16	2,54	2,18	1,72	2,12	0,48	1634	-

Legenda: nd: substância não identificada; tr: traço da substância, valor padronizado de 0,04 %; nc: não consta a substância analisada para a determinada amostra, valor padronizado 0,01 %.

APÊNDICE 4: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Poço Bonito, município de Lavras-MG, coleta de verão de 2011.

Substância	Pbo1	Pbo2	Pbo3	Pbo4	Pbo5	Pbo6	Pbo7	Pbo8	Pbo9	Pbo10
trícicleno	tr	1,22	tr	0,31	tr	0,20	0,23	0,22	0,86	1,45
canfeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
benzaldeído	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
β-pineno	0,15	1,26	tr	0,63	tr	0,19	0,34	0,21	2,22	2,48
p-cimeno	tr	0,10	tr	tr	tr	0,07	tr	0,14	tr	0,20
silvestreno	tr	0,33	tr	0,17	0,07	0,18	0,13	0,22	0,22	0,48
cis-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
trans-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
γ-terpineno	0,10	0,18	tr	tr	tr	0,10	tr	0,29	tr	0,45
nd1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
terpinen-4-ol	tr	0,21	0,09	0,25	tr	0,30	tr	0,33	tr	0,44
α-terpineol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,07
cis-cinamato de metila	tr	tr	tr	tr	0,36	0,61	0,33	0,47	0,41	0,72
trans-cinamato de metila	80,36	82,11	86,52	88,06	90,10	79,24	85,61	78,72	77,52	67,64
trans-cariofileno	11,39	8,40	8,14	5,54	4,56	11,44	6,57	11,62	9,86	18,79
α-humuleno	3,68	2,56	2,62	1,80	1,47	3,45	2,11	3,43	3,06	5,28
óxido de cariofileno	tr	0,07	tr	0,07	0,08	0,23	0,18	0,17	0,19	0,19
nd2	1,40	1,08	0,85	1,07	1,03	1,36	1,39	1,56	1,95	0,75
khusimona	tr	tr	tr	0,17	tr	tr	tr	tr	0,23	tr
nd3	0,37	0,41	0,30	0,29	0,33	0,36	0,38	0,41	0,52	0,18
nd4	0,47	0,28	0,20	0,22	0,32	0,23	0,30	0,28	0,25	tr
nd5	0,18	0,36	0,37	0,15	0,38	0,36	0,58	0,46	0,59	0,23
nd6	1,41	0,78	0,75	0,53	0,93	0,84	1,23	1,05	1,32	tr

APÊNDICE 4: Continuação.

Substância	Pbo11	Pbo12	Pbo13	Pbo14	Pbo15	Pbo16	Pbo17	IRc	IRI
trícicleno	0,54	0,85	0,37	0,26	0,38	1,00	0,33	932	926
canfeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	946	954
benzaldeído	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	955	960
β-pineno	0,97	1,73	0,17	0,18	0,31	1,41	0,27	975	979
p-cimeno	tr	tr	0,30	0,46	0,55	0,18	tr	1022	1024
silvestreno	0,17	0,34	0,21	0,13	0,32	0,70	0,69	1026	1027
cis-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1034	1037
trans-β-ocimeno	tr	0,18	tr	tr	tr	0,15	tr	1045	1050
γ-terpineno	tr	tr	0,27	0,11	0,25	0,34	0,27	1056	1059
nd1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1086	-
terpinen-4-ol	tr	0,15	0,16	0,11	0,30	0,39	0,25	1174	1177
α-terpineol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1188	1188
cis-cinamato de metila	tr	tr	0,22	0,22	0,46	0,26	0,11	1301	1299
trans-cinamato de metila	75,79	79,98	74,17	84,20	81,05	76,78	86,88	1381	1378
trans-cariofileno	14,25	9,13	16,86	9,57	10,48	12,49	6,96	1419	1419
α-humuleno	4,23	2,86	4,89	2,98	3,38	3,74	2,20	1452	1454
óxido de cariofileno	0,08	0,17	0,25	0,18	0,24	0,09	tr	1550	1581
nd2	1,22	1,57	0,74	0,55	1,01	1,00	0,62	1581	-
khusimona	0,33	tr	tr	tr	tr	tr	0,18	1596	1604
nd3	0,40	0,48	0,24	0,13	0,18	0,22	0,16	1607	-
nd4	0,30	0,40	0,16	0,19	0,16	0,13	0,17	1615	-
nd5	0,44	0,45	0,32	0,35	0,71	0,15	tr	1630	-
nd6	0,81	0,91	0,26	0,06	tr	0,56	0,36	1634	-

Legenda: nd: substância não identificada; tr: traço da substância, valor padronizado de 0,04 %; nc: não consta a substância analisada para a determinada amostra, valor padronizado 0,01%.

APÊNDICE 5: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Serra do Sofá, município de Itumirim-MG, coleta de verão de 2011.

Substância	Sso1	Sso2	Sso3	Sso4	Sso5	Sso6	Sso7	Sso8	Sso9	Sso10
triciclono	1,56	1,52	1,28	1,32	0,42	1,16	1,26	1,56	0,36	0,72
canfeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
benzaldeído	tr	tr	tr	tr	tr	0,12	tr	tr	tr	tr
β-pineno	2,05	1,90	1,34	1,75	0,31	2,25	1,28	2,41	0,33	0,62
p-cimeno	tr	tr	0,10	tr	0,15	tr	tr	tr	0,20	0,06
silvestreno	0,26	0,25	0,25	0,25	0,23	0,14	0,21	0,16	0,22	0,19
cis-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
trans-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	0,21	tr	tr	tr	tr	tr
γ-terpineno	0,28	tr	0,25	0,22	0,43	0,05	tr	0,09	0,44	0,16
nd1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
terpinen-4-ol	0,19	0,14	0,19	0,20	0,40	tr	0,13	0,12	0,43	tr
α-terpineol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,07	tr	tr	tr
cis-cinamato de metila	0,13	0,19	0,70	0,16	0,23	0,95	0,22	0,32	0,62	0,34
trans-cinamato de metila	73,13	70,99	67,75	62,56	65,42	71,05	78,85	72,66	66,48	81,49
trans-cariofileno	16,34	17,93	19,80	24,20	22,36	15,74	11,19	14,89	21,26	10,59
α-humuleno	4,93	5,29	5,71	7,18	6,60	4,60	3,34	4,40	6,42	3,16
óxido de cariofileno	tr	tr	0,20	tr	0,12	0,28	0,23	0,13	0,28	tr
nd2	0,59	0,80	0,94	0,76	1,27	1,57	0,93	1,38	1,12	1,01
khusimona	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
nd3	0,08	0,13	0,21	0,17	0,34	0,31	0,27	0,34	0,25	0,35
nd4	tr	0,22	0,17	0,12	0,24	0,12	0,23	0,14	0,19	0,29
nd5	tr	0,08	0,18	0,14	0,26	0,25	0,26	0,24	0,18	0,24
nd6	0,27	0,56	0,69	0,40	0,72	0,85	0,70	0,72	0,81	0,73

APÊNDICE 5: Continuação.

Substância	Sso11	Sso12	Sso13	Sso14	Sso15	Sso16	Sso17	Sso18	Sso19	Sso20
trícicleno	1,43	0,28	0,52	0,89	0,37	0,76	0,75	0,49	0,50	1,70
canfeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
benzaldeído	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,11	tr	tr
β-pineno	1,95	0,18	0,55	1,48	0,36	1,20	1,09	0,48	0,34	2,36
p-cimeno	tr	0,17	tr	0,20	tr	0,13	0,10	0,09	0,38	0,56
silvestreno	0,20	0,14	0,11	0,22	0,18	0,24	0,16	0,10	0,27	0,60
cis-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
trans-β-ocimeno	tr	0,13	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
γ-terpineno	tr	0,21	tr	0,26	0,31	0,43	0,15	0,09	0,42	0,95
nd1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
terpinen-4-ol	tr	0,21	tr	0,37	0,28	0,45	0,19	tr	0,61	0,87
α-terpineol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
cis-cinamato de metila	0,19	1,02	0,31	0,50	0,48	0,38	0,52	0,95	0,66	0,65
trans-cinamato de metila	81,49	66,42	70,79	70,72	84,06	70,71	77,93	81,04	76,52	64,68
trans-cariofileno	7,23	20,60	17,85	16,10	9,02	17,10	11,24	9,05	11,83	17,84
α-humuleno	2,20	6,01	5,24	4,78	2,75	5,09	3,41	2,74	3,55	5,49
óxido de cariofileno	0,11	0,37	0,20	0,18	tr	0,12	0,12	0,23	0,25	0,29
nd2	2,17	1,68	1,63	1,89	0,92	1,49	1,78	1,36	1,78	1,41
khusimona	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
nd3	0,58	0,48	0,46	0,50	0,26	0,38	0,40	0,38	0,51	0,40
nd4	0,24	0,27	0,27	0,22	0,17	0,22	0,19	0,15	0,30	0,17
nd5	0,34	0,36	0,32	0,35	0,13	0,28	0,32	0,31	0,47	0,26
nd6	1,17	1,12	0,93	0,96	0,43	0,75	0,78	0,81	1,12	0,71

APÊNDICE 5: Continuação.

Substância	Sso21	Sso22	Sso23	Sso24	Sso25	Sso26	Sso27	Sso28	Sso29	IRc	IRI
trícicleno	0,52	0,91	1,51	1,14	2,04	0,72	tr	0,60	0,89	932	926
canfeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	946	954
benzaldeído	tr	tr	tr	0,12	tr	tr	tr	tr	tr	955	960
β-pineno	0,48	1,60	1,87	1,65	2,39	0,74	tr	0,79	0,95	975	979
p-cimeno	0,22	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,16	1022	1024
silvestreno	0,25	0,15	0,25	tr	0,23	0,31	tr	0,13	0,19	1026	1027
cis-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1034	1037
trans-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	0,23	tr	tr	tr	tr	1045	1050
γ-terpineno	0,43	0,17	tr	0,11	0,18	0,19	tr	0,25	0,22	1056	1059
nd1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1086	-
terpinen-4-ol	0,60	tr	tr	0,13	0,22	0,20	tr	0,11	0,19	1174	1177
α-terpineol	tr	tr	0,19	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1188	1188
cis-cinamato de metila	0,22	0,09	0,42	0,43	0,52	0,37	0,39	0,27	0,30	1301	1299
trans-cinamato de metila	80,00	78,83	73,88	78,47	62,37	67,33	68,64	77,63	76,13	1381	1378
trans-cariofileno	10,02	10,69	12,29	10,66	22,08	19,98	19,58	12,66	14,34	1419	1419
α-humuleno	3,04	3,27	3,92	3,31	6,29	5,73	5,84	3,81	4,46	1452	1454
óxido de cariofileno	tr	0,16	0,31	tr	0,25	0,19	0,18	0,15	tr	1550	1581
nd2	1,58	1,22	1,73	1,23	1,26	1,23	1,39	1,41	0,70	1581	-
khusimona	tr	tr	tr	tr	0,11	tr	tr	tr	tr	1596	1604
nd3	0,39	0,44	0,63	0,30	0,36	0,49	0,38	0,54	0,24	1607	-
nd4	0,15	0,26	0,36	0,11	tr	0,30	0,35	0,19	0,23	1615	-
nd5	0,26	0,24	0,45	0,12	0,14	0,32	0,26	0,19	0,08	1630	-
nd6	0,59	0,62	0,79	0,57	0,51	0,79	0,61	0,43	0,27	1634	-

Legenda: nd: substância não identificada; tr: traço da substância, valor padronizado de 0,04 %; nc: não consta a substância analisada para a determinada amostra, valor padronizado 0,01%.

APÊNDICE 6: Composição química (% relativa média) do óleo essencial de indivíduos de *Lychnophora pinaster* provenientes da população Areia Branca, município de Carrancas-MG, coleta de verão de 2011.

Substância	Abr1	Abr2	Abr3	Abr4	Abr5	Abr6	Abr7	Abr8	Abr9	Abr10
tricicleno	0,63	0,12	tr	0,10	0,39	0,11	tr	tr	0,25	0,96
canfeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
benzaldeído	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,12	tr	tr
β-pineno	1,12	0,48	tr	0,24	0,28	tr	tr	tr	0,19	1,76
ρ-cimeno	tr	tr	tr	0,12	tr	tr	tr	tr	0,10	0,32
silvestreno	0,29	tr	tr	0,20	0,11	0,20	tr	0,23	tr	0,37
cis-β-ocimeno	tr	tr	tr	0,12	tr	0,12	tr	tr	tr	tr
trans-β-ocimeno	tr	tr	tr	0,11	tr	tr	tr	tr	tr	tr
γ-terpineno	0,19	tr	tr	0,16	0,47	0,31	tr	tr	0,22	0,36
nd1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
terpinen-4-ol	tr	tr	tr	0,38	0,49	0,46	tr	tr	0,42	0,49
α-terpineol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
cis-cinamato de metila	0,22	2,07	tr	0,40	0,62	1,69	1,53	4,53	0,44	1,27
trans-cinamato de metila	65,82	78,62	59,80	83,43	66,21	71,37	55,95	63,75	72,94	71,95
trans-cariofileno	17,78	6,70	12,20	7,43	19,11	13,86	23,90	11,02	13,25	12,45
α-humuleno	5,52	1,96	4,33	2,32	5,75	4,15	6,67	3,21	3,95	3,58
óxido de cariofileno	0,26	0,70	1,04	tr	0,13	0,24	0,13	1,57	0,32	0,54
nd2	2,90	3,61	7,62	1,64	2,47	2,84	4,94	6,34	2,94	2,47
khusimona	tr	tr	tr	tr	0,09	tr	0,09	0,20	tr	tr
nd3	0,78	0,65	1,10	0,45	0,62	0,65	0,85	0,95	0,72	0,65
nd4	0,59	tr	0,60	0,25	0,19	tr	tr	0,10	0,33	0,26
nd5	0,79	0,59	1,12	0,42	0,62	0,67	1,04	1,24	0,71	0,46
nd6	1,42	1,72	7,59	0,82	1,49	1,70	2,31	3,96	1,60	1,22

APÊNDICE 6: Continuação.

Substância	Abr11	Abr12	Abr13	Abr14	Abr15	Abr16	Abr17	Abr18	Abr19	Abr20
trícicleno	1,21	0,20	0,89	tr	0,25	0,72	0,49	tr	1,43	1,46
canfeno	0,10	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
benzaldeído	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,14	0,11	tr	tr
β -pineno	1,88	0,57	1,85	tr	0,25	1,17	0,38	tr	1,68	2,05
p-cimeno	0,22	tr	tr	tr	0,08	0,07	0,24	0,34	0,19	0,35
silvestreno	0,32	0,06	0,08	tr	0,07	0,20	0,26	0,10	0,40	0,47
<i>cis</i> - β -ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
<i>trans</i> - β -ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,10
γ -terpineno	0,27	tr	tr	tr	0,15	0,22	0,39	tr	0,34	0,22
nd1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,14	tr	tr
terpinen-4-ol	0,31	tr	tr	tr	0,22	0,16	0,28	tr	0,47	0,40
α -terpineol	0,10	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
<i>cis</i> -cinamato de metila	1,45	1,90	0,40	1,87	tr	0,14	0,74	5,90	0,26	0,09
<i>trans</i> -cinamato de metila	70,87	64,86	72,41	44,61	83,99	80,65	72,29	62,34	59,69	72,87
<i>trans</i> -cariofileno	14,26	11,60	13,72	32,62	7,48	10,07	16,35	13,10	22,71	12,48
α -humuleno	4,11	3,52	4,37	8,97	2,24	2,99	4,86	3,60	6,47	3,74
óxido de cariofileno	0,47	1,02	0,20	1,86	0,17	tr	0,29	2,00	0,19	tr
nd2	1,69	6,43	1,86	4,82	1,76	1,43	1,55	4,23	2,87	2,58
khusimona	tr	0,44	tr	tr	0,11	0,21	tr	0,17	tr	tr
nd3	0,47	0,38	0,49	0,56	0,55	0,38	0,31	0,87	0,69	0,67
nd4	0,33	0,28	0,25	tr	0,20	0,16	0,17	0,33	0,26	0,29
nd5	0,44	1,31	0,51	tr	0,44	0,32	0,13	0,90	0,44	0,42
nd6	1,04	4,33	0,86	3,44	0,89	0,66	0,84	3,46	1,11	0,98

APÊNDICE 6: Continuação.

Substância	Abr21	Abr22	Abr23	Abr24	Abr25	Abr26	IRc	IRI
trícicleno	tr	tr	0,82	tr	0,52	0,45	932	926
canfeno	tr	tr	tr	tr	0,22	tr	946	954
benzaldeído	tr	tr	tr	tr	tr	tr	955	960
β-pineno	tr	tr	0,65	0,16	tr	0,26	975	979
p-cimeno	tr	tr	1,98	tr	tr	0,36	1022	1024
silvestreno	0,21	0,28	0,81	0,12	0,10	0,30	1026	1027
cis-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1034	1037
trans-β-ocimeno	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1045	1050
γ-terpineno	0,21	0,11	0,10	tr	0,15	0,42	1056	1059
nd1	tr	tr	0,10	tr	0,22	tr	1086	-
terpinen-4-ol	0,14	tr	tr	tr	tr	0,58	1174	1177
α-terpineol	tr	0,20	tr	tr	tr	tr	1188	1188
cis-cinamato de metila	3,05	2,74	1,64	0,74	7,19	0,23	1301	1299
trans-cinamato de metila	51,54	47,90	46,84	64,85	62,42	71,56	1381	1378
trans-cariofileno	22,50	23,90	23,27	9,46	13,76	15,65	1419	1419
α-humuleno	6,35	6,89	6,79	2,97	4,04	4,66	1452	1454
óxido de cariofileno	1,79	2,22	1,48	1,93	1,50	tr	1550	1581
nd2	6,06	6,97	7,79	7,19	4,32	1,97	1581	-
khusimona	0,18	0,17	tr	0,15	0,21	tr	1596	1604
nd3	1,09	1,02	1,03	1,20	0,74	0,50	1607	-
nd4	0,25	0,34	0,10	0,50	0,24	0,42	1615	-
nd5	0,80	1,05	0,93	1,78	0,65	0,54	1630	-
nd6	2,99	3,94	2,88	4,57	2,10	1,04	1634	-

Legenda: nd: substância não identificada; tr: traço da substância, valor padronizado de 0,04 %; nc: não consta a substância analisada para a determinada amostra, valor padronizado 0,01%.

APÊNDICE 7: Rendimento médio (%) de óleo essencial de *L. pinaster*, dos indivíduos de três populações, coletadas no inverno e no verão de 2011, Minas Gerais.

Indivíduo	Inv.	Ver.	Indivíduo	Inv.	Ver.	Indivíduo	Inv.	Ver.
Pbo1	1,63	0,43	Sso1	1,18	1,21	Abr1	0,60	0,53
Pbo2	1,02	1,57	Sso2	0,78	1,23	Abr2	0,50	0,16
Pbo3	1,09	0,56	Sso3	0,91	0,87	Abr3	0,09	*
Pbo4	0,16	1,12	Sso4	1,04	1,16	Abr4	0,85	1,28
Pbo5	1,30	1,02	Sso5	1,15	1,39	Abr5	0,83	0,78
Pbo6	0,71	1,00	Sso6	0,74	1,10	Abr6	0,61	0,32
Pbo7	1,32	1,10	Sso7	0,28	1,08	Abr7	0,59	0,23
Pbo8	1,93	0,70	Sso8	0,53	0,71	Abr8	0,19	0,11
Pbo9	0,92	0,83	Sso9	1,77	1,10	Abr9	0,87	0,80
Pbo10	1,71	0,49	Sso10	0,88	1,20	Abr10	0,16	0,19
Pbo11	0,74	0,12	Sso11	0,82	1,01	Abr11	0,78	0,47
Pbo12	0,19	0,64	Sso12	1,54	1,20	Abr12	0,15	*
Pbo13	0,63	1,34	Sso13	0,69	0,77	Abr13	0,80	0,73
Pbo14	1,44	1,27	Sso14	0,45	1,92	Abr14	0,07	*
Pbo15	1,31	0,62	Sso15	1,08	1,31	Abr15	0,37	0,71
Pbo16	1,71	1,90	Sso16	0,78	1,27	Abr16	1,00	0,81
Pbo17	1,165	1,03	Sso17	0,30	1,85	Abr17	0,16	*
-	-	-	Sso18	0,61	0,91	Abr18	0,16	0,06
-	-	-	Sso19	0,70	1,20	Abr19	0,67	0,28
-	-	-	Sso20	0,53	0,71	Abr20	0,78	0,65
-	-	-	Sso21	0,89	1,60	Abr21	0,08	0,03
-	-	-	Sso22	1,19	0,89	Abr22	0,05	0,04
-	-	-	Sso23	0,58	1,14	Abr23	0,11	*
-	-	-	Sso24	0,54	1,26	Abr24	0,03	0,06
-	-	-	Sso25	0,67	0,85	Abr25	0,09	0,10
-	-	-	Sso26	1,66	1,14	Abr26	0,61	0,84
-	-	-	Sso27	0,92	0,73	-	-	-
-	-	-	Sso28	0,38	0,71	-	-	-
-	-	-	Sso29	0,52	1,57	-	-	-

- Amostras com * foram solubilizadas com diclorometano, não sendo possível aferir o rendimento médio.