

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

KELROLLEM FERNANDES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) SOBRE O
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Lactuca sativa* L.**

SANTA HELENA

2025

KELROLLEM FERNANDES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) SOBRE O
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Lactuca sativa* L.**

**CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ALLELOPATHIC EVALUATION OF
THE ESSENTIAL OIL FROM THE LEAVES OF *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) ON
THE INITIAL DEVELOPMENT OF *Lactuca sativa* L.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do
título de Licenciado em Ciências Biológicas da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jociani Ascari.
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Edicleia Aparecida
Bonini e Silva

.

SANTA HELENA

2025



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

KELROLLEM FERNANDES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO ALELOPÁTICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) SOBRE O
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Lactuca sativa* L.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do
título de Licenciado em Ciências Biológicas da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 14 de fevereiro de 2025.

Jociani Ascari
Doutora
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Andreine Aline Roos
Doutora
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Karina Heberle
Mestre
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

SANTA HELENA

2025

Aos meus amados pais, Rute e Antonio, que sempre estiveram ao meu lado com amor, apoio e incentivo incondicionais. Vocês são a base sólida que me sustenta em todos os momentos da vida.

Ao meu querido noivo, Alan Torquato, cujo amor e compreensão são minha fonte de força e motivação para alcançar meus sonhos.

À minha irmã Jessica ou Deda como a chamamos, que com sua determinação e coragem, mesmo diante de desafios, me inspira a ser uma pessoa melhor a cada dia. Sua presença na minha vida é um presente inestimável.

Com todo o meu carinho e gratidão, este TCC é dedicado a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, que sempre me conduziu com seu amor. Senhor tu és minha fortaleza!

A minha orientadora Prof. Dra. Jociani Ascari, pela sabedoria, paciência e carinho com que me guiou nesta trajetória (flor, querida, moçadinha).

A minha coorientadora Prof. Dra. Edicleia Bonini, por todo apoio e dedicação.

Aos meus colegas de sala, especialmente a Dona Solange falecida no ano de 2020 devido a Covid 19.

A Secretaria, Coordenação do Curso e a todos os meus professores pela cooperação.

As funcionárias da limpeza que sempre me receberam com um enorme sorriso.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer esse desafio, especialmente aos meus irmãos Daniel e Natiele.

Aos meus sobrinhos agradeço a todo amor e a oportunidade de vê-los crescendo mesmo que a distância.

Aos meus sogros Heloisa e Alan por todo o apoio e piadas que me fizeram rir durante esse período.

Aos meus amigos Gabriel e Marina pelo apoio desde o começo da faculdade, juntamente aos meus amigos Augusto, Giuseppe, Júlia e Júlio que tantas vezes dividiram comigo sonhos, alegrias, tristezas e principalmente a amizade.

As minhas amigas Vitória, Alexa e Mariana que inundaram minha vida de amor durante o período de Mobilidade Estudantil em Portugal.

Ao meu grande amigo Guilherme, pelas inúmeras visitas em Santa Helena, apesar de sempre reclamar da distância.

Aos meus amigos Alexandre e Max pela companhia mesmo que a distância.

Ao meu professor Daniel (in memória) que infelizmente perdeu a vida tão jovem.

Ao Otmar e Gabriela que me receberam em Santa Helena inicialmente como locatários e terminamos esse período como amigos.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização deste trabalho.

"A natureza não faz nada em vão."

Aristóteles (384 a.C. a 322 a.C)

RESUMO

Este estudo teve como objetivo realizar a caracterização química do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* L. e investigar o potencial alelopático do óleo essencial extraído de suas folhas, sobre a germinação e o crescimento da espécie *Lactuca sativa* L. O óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* (pitanga), da marca Legeé, foi adquirida em comércio local da cidade de Santa Helena, Paraná. A caracterização química do óleo essencial foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), sendo possível identificar como compostos majoritários, óxido-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, representando 21,14% da composição total, seguido pelo curzereno com 20,50%. Outros compostos de destaque incluem o germacreno B (11,19%), selina-3,5,7(11)-trien-8-ona (10,99%) e germacreno (4,67%). Nos bioensaios, diferentes concentrações do óleo essencial (8, 16, 32 e 64 µl/ml) foram aplicadas a sementes de *L. sativa*, com avaliações da porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG) e ΔPA crescimento da parte aérea das plântulas. Os resultados indicaram que a germinação das sementes não foi significativamente afetada nas concentrações testadas, indicando que o óleo essencial não interfere nos processos iniciais de embebição e quebra de dormência. Contudo, o crescimento da parte aérea foi inibido de forma dose-dependente, com reduções observadas a partir de 16 µl/ml, refletindo os efeitos alelopáticos dos compostos bioativos sobre os processos metabólicos das plântulas. Desta forma, o óleo essencial destaca-se como uma alternativa de interesse para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis, porém com limitações práticas que exigem otimizações em formulações ou combinações com outros compostos ativos. O presente estudo contribui para a ampliação do conhecimento sobre os recursos químicos de espécies nativas brasileiras e sua possível aplicação no manejo de plantas específicas, promovendo práticas agrícolas mais controladas à redução dos impactos ambientais e à preservação da biodiversidade.

Palavras-chave: alelopatia; *Eugenia uniflora*; óleo essencial; *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

This study aimed to characterize the chemical composition of the essential oil from the leaves of *Eugenia uniflora* L. and to investigate its allelopathic potential on the germination and growth of *Lactuca sativa* L. The essential oil from *Eugenia uniflora* (pitanga), branded Legeé, was purchased from a local store in Santa Helena, Paraná. The chemical characterization of the essential oil was performed using thin-layer chromatography (TLC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), allowing the identification of major compounds, with selina-1,3,7(11)-trien-8-one oxide accounting for 21.14% of the total composition, followed by curzerene with 20.50%. Other notable compounds include germacrene B (11.19%), selina-3,5,7(11)-trien-8-one (10.99%), and germacrene (4.67%). In the bioassays, different concentrations of the essential oil (8, 16, 32, and 64 µl/ml) were applied to *L. sativa* seeds, with evaluations of germination percentage (GP), germination speed index (GSI), and shoot growth of the seedlings. The results indicated that seed germination was not significantly affected at the tested concentrations, suggesting that the essential oil does not interfere with the initial processes of water uptake and dormancy release. However, shoot growth was inhibited in a dose-dependent manner, with reductions observed from 16 µl/ml onwards, indicating the allelopathic effects of bioactive compounds on the metabolic processes of the seedlings. Thus, the essential oil emerges as a promising alternative for developing more sustainable agricultural practices, although practical limitations require optimization of formulations or combinations with other active compounds. This study contributes to expanding knowledge about the chemical resources of native Brazilian species and their potential application in plant management, promoting more controlled agricultural practices, reducing environmental impacts, and preserving biodiversity.

Keywords: allelopathy; *Eugenia uniflora*; essential oil; *Lactuca sativa*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Câmara cromatográfica utilizando béquer tampado com placa de Petri.....	26
Figura 2 – Placas de Petri nas quais foram depositadas 25 sementes para o experimento.....	28
Figura 3 – Medição das sementes germinadas	29
Figura 4 – Cromatoplaça do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> L., evidenciando os compostos separados por polaridade, revelados com anisaldeído sulfúrico.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Compostos identificados no óleo essencial através de cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas e posterior cálculo do índice de retenção linear	34
Tabela 2 – Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (PG) e crescimento (Δ PA(Cm) da parte aérea de sementes de <i>Lactuca sativa</i> submetidas ao tratamento com extrato com óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i>	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDB	Convenção sobre a Diversidade Biológica
CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CG-FID	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização por Chama
FID	Detector de ionização por chama
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
LRI	Índice de Retenção Linear
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NIST	National Institute of Standards and Technology
PG	Porcentagem de Germinação
RMN	Ressonância magnética nuclear
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivos específicos.....	15
3	REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1	Biodiversidade brasileira.....	16
3.2	Família Myrtaceae Juss.	16
3.3	Gênero <i>Eugenia</i> L.....	17
3.4	Espécie <i>Eugenia uniflora</i> L. (Pitangueira).....	17
3.5	Metabolismo vegetal	19
3.6	Alelopatia	20
3.7	Óleos essenciais	21
3.8	Bioensaios para Avaliação do Efeito Alelopático.....	22
3.9	Caracterização química por técnicas cromatográficas.....	22
3.10	Caracterização Química por Técnicas Cromatográficas Erro! Indicador não definido.	
<u>3.10.1</u>	<u>Cromatografia em camada delgada (CCD)</u>	<u>23</u>
<u>3.10.2</u>	<u>Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM).....</u>	<u>24</u>
<u>3.10.3</u>	<u>CG-FID: detector de ionização por chama</u>	<u>25</u>
4	METODOLOGIA	26
4.1	Caracterização química por técnicas cromatográficas.....	26
4.2	Bioensaio de Germinação e Crescimento	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	Caracterização química do óleo essencial por cromatografia em camada delgada (CCD)	31
5.2	Caracterização química por cromatografia gasosa.....	32
5.3	Bioensaios de germinação e crescimento	35
6	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS.....	39
	ANEXO A – LEI Nº 9.610, DE 19 DE FEVEREIRO DE 1998	45

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é reconhecido como um dos países mais biodiversos do mundo, abrigando aproximadamente 20% das espécies globais distribuídas em diversos ecossistemas terrestres e aquáticos (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 2016). Essa riqueza biológica confere ao país um papel estratégico na conservação da natureza e oferece oportunidades econômicas significativas, especialmente no desenvolvimento sustentável de produtos naturais. A bioeconomia, baseada no uso responsável dos recursos naturais, tem se mostrado uma alternativa promissora para o setor agrícola, promovendo a diversificação e a redução do impacto ambiental (Ministério do Meio Ambiente – MMA, 2024).

A intensificação do uso de agrotóxicos na agricultura moderna tem gerado preocupações ambientais e de saúde pública. O uso indiscriminado desses produtos químicos está associado à contaminação do solo e da água, degradação da biodiversidade e efeitos adversos à saúde humana, incluindo câncer, distúrbios hormonais e problemas neurológicos (BRASIL, 2018; Jabran, 2017). Diante desse cenário, pesquisas voltadas para alternativas naturais de manejo agrícola têm ganhado relevância, explorando o potencial de compostos vegetais na interação com outras espécies e seus efeitos no ambiente.

Dentre as espécies nativas com propriedades químicas de interesse, *E. uniflora* L., popularmente conhecida como pitangueira, tem sido amplamente estudada devido à sua composição rica em metabólitos bioativos. Pertencente à família Myrtaceae, essa espécie ocorre nos biomas Mata Atlântica e Cerrado e apresenta grande importância ecológica e econômica (Lorenzi, 2002; Santos *et al.*, 2020). Além de seu valor nutricional e medicinal, *E. uniflora* se destaca pelo óleo essencial presente em suas folhas, rico em compostos como sesquiterpenos e flavonoides, responsáveis por propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias.

O óleo essencial extraído das folhas da pitangueira contém compostos voláteis, como curzereno, germacrene B e furanodieno, cuja composição pode variar conforme fatores como origem geográfica, época de coleta e método de extração, influenciando sua atividade biológica (BRASIL, 2017). Pesquisas indicam que esse óleo apresenta atividade antimicrobiana significativa contra bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, e Gram-negativas, como *Escherichia coli*, além de demonstrar potencial antifúngico contra *Candida albicans* (Oliveira *et al.*, 2021). Além dessas propriedades, o óleo essencial de *E. uniflora* tem sido investigado quanto à sua possível atividade alelopática. A alelopatia, conceito introduzido por Hans Molisch em 1937, refere-se às interações químicas entre plantas mediadas por compostos que podem inibir ou estimular o crescimento de outras espécies vegetais (Molisch, 1937). O

estudo desses efeitos é relevante para a compreensão das interações ecológicas e o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentável (Taiz; Zeiger, 2002).

Pesquisas indicam que extratos de folhas de *E. uniflora* podem influenciar a germinação de outras espécies. Boiago *et al.* (2014) afirmam que "o extrato fresco de pitangueira apresentou efeito fitotóxico na germinação e no crescimento radicular da alface (*L. sativa*), enquanto o extrato infuso, em determinadas concentrações, estimulou o crescimento radicular da alface e o comprimento da parte aérea do milho (*Zea mays*)" (Boiago *et al.*, 2014, p. 52). Esses achados sugerem que os extratos da pitangueira possuem bioatividade alelopática, com efeitos dependentes da concentração e do tipo de extrato utilizado.

O óleo essencial extraído das folhas de *E. uniflora* também tem demonstrado atividade alelopática. Segundo Lopes (2008), "o óleo essencial de *E. uniflora* apresentou efeito inibitório no crescimento radicular de *Sorghum bicolor* e *Cucumis sativus*, sendo que, em concentrações menores, estimulou o crescimento das plântulas de pepino" (LOPES, 2008, p. 34). Esses resultados reforçam a importância de compreender a bioatividade desse óleo e suas possíveis aplicações no manejo sustentável de plantas.

A investigação desses efeitos contribui para ampliar o conhecimento sobre as propriedades ecológicas e químicas de *E. uniflora*, permitindo avaliar suas interações com outras espécies vegetais e seu potencial em sistemas agrícolas mais equilibrados. O estudo dos compostos bioativos dessa espécie pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias para o controle biológico de plantas daninhas, reduzindo a necessidade do uso intensivo de produtos sintéticos. Dessa forma, ao explorar o potencial alelopático da *E. uniflora*, busca-se gerar conhecimento que possa embasar futuras pesquisas sobre seu uso no manejo sustentável da vegetação e na valorização da biodiversidade brasileira. O aprofundamento desses estudos pode fornecer subsídios para novas investigações sobre a aplicação de metabólitos vegetais em práticas agrícolas de menor impacto ambiental.

2 OBJETIVOS

Avaliar a composição química e o potencial biológico do óleo essencial de *E. uniflora* L., com ênfase em sua propriedade alelopática na germinação e crescimento inicial em *L. sativa* L. Como forma de contribuir para o avanço do conhecimento sobre os recursos químicos de espécies nativas brasileiras, destacando sua relevância para a conservação da biodiversidade e sua integração em soluções tecnológicas e ambientais.

2.1 Objetivos específicos

- Caracterizar a composição química do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* L. através das técnicas de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (GC-EM).
- Investigar o potencial alelopático do óleo essencial de *E. uniflora* L. na espécie indicadora *L. sativa* L. (alface).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Biodiversidade brasileira

A biodiversidade refere-se à variação dos organismos vivos de todas as origens, abrangendo ecossistemas terrestres e aquáticos, além dos complexos ecológicos que os interligam (Convenção sobre a Diversidade Biológica – CDB, 1992). De acordo com Belandi (2023), o Brasil é reconhecido como um dos países mais ricos em biodiversidade, abrigando cerca de 50.313 espécies de plantas e mais de 125 mil espécies de animais catalogadas. Segundo o Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2024), a biodiversidade brasileira é estratégica para a implementação de políticas públicas e ações privadas que promovam o uso sustentável dos recursos naturais, incentivando soluções baseadas na natureza para diversificar cultivos, desenvolver novos produtos e atrair investimentos, contribuindo diretamente para a prosperidade econômica e a sustentabilidade ambiental.

3.2 Família Myrtaceae Juss.

A família Myrtaceae compreende cerca de 140 gêneros com aproximadamente 3.000 espécies, apresentando uma grande diversidade (Limberger *et al.*, 2004). No entanto, estudos mais recentes apontam que essa estimativa pode estar subdimensionada, revelando uma diversidade ainda maior dentro da família. Govaerts *et al.* (2008) relatam que a Myrtaceae abriga 132 gêneros e 5.671 espécies, enquanto Judd *et al.* (2009) estimam aproximadamente 4.630 espécies distribuídas em 144 gêneros. Essas variações nos números refletem avanços nas técnicas de taxonomia e classificação, bem como a contínua descoberta de novas espécies. Essas variações nos números refletem o avanço das pesquisas botânicas e a descoberta de novas espécies ao longo do tempo.

A maioria dos frutos da Família Myrtaceae se desenvolvem em ambientes com deficiência de chuva, forte exposição solar e altas temperaturas, o que contribui para que essas plantas sejam importantes fontes de metabólitos secundários (Reynertson *et al.*, 2008). De acordo com Taiz e Zeiger (2017), "os estresses ambientais, como seca, radiação UV e temperaturas extremas, estimulam a produção de metabólitos secundários, incluindo flavonoides, terpenoides e alcaloides, os quais desempenham funções essenciais na proteção contra herbivoria, patógenos e estresses oxidativos" (Taiz; Zeiger, 2017, p. 345).

Além disso, estudos indicam que plantas submetidas a déficit hídrico acumulam maiores quantidades de fenóis e taninos, promovendo maior resistência ao estresse hídrico e aumentando suas propriedades antioxidantes (Braga *et al.*, 2016). Algumas espécies desta família se destacam pela sua elevada concentração de terpenos, especialmente nas folhas, tornando-se uma valiosa fonte de óleos essenciais (Paula, 2019). Esses terpenos têm despertado o interesse de diversos setores industriais, devido às suas múltiplas propriedades (Keszei; Padovan, 2014). Em altas concentrações, muitos desses óleos essenciais demonstram um potencial inibidor significativo na germinação de aquários de alface e outras espécies invasoras, o que amplia sua relevância no âmbito da pesquisa científica (Souza Filho *et al.*, 2006).

3.3 Gênero *Eugenia* L.

O gênero *Eugenia*, o mais representativo da família Myrtaceae, compreende cerca de 1.050 espécies amplamente distribuídas na América Latina. No Brasil, foram identificadas 407 espécies, com maior concentração na Mata Atlântica (256 espécies), seguida pela Amazônia (108 espécies) e pelo Cerrado (83 espécies) (Govaerts; Mazine, 2024).

Espécies do gênero *Eugenia* apresentam ampla diversidade morfológica, incluindo arbustos e árvores com folhas inteiras e inflorescências variadas. Os frutos, predominantemente globosos ou elipsoides, exibem colorações que variam do amarelo ao roxo quando maduros. Essa perspectiva ecológica reflete a notável adaptabilidade do gênero, que ocorre em diferentes biomas brasileiros, desde florestas nativas até áreas antropizadas (Govaerts; Mazine, 2024).

No aspecto fitoquímico, o gênero *Eugenia* se destaca por sua rica composição em compostos fenólicos, flavonoides, triterpenos, monoterpenos e sesquiterpenos. Esses compostos bioativos conferem às espécies uma ampla gama de propriedades medicinais, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antimicrobianas, reforçando sua importância para aplicações farmacológicas e industriais (Patil *et al.*, 2009; Rice-Evans; Miller; Paganga, 1997; Shahidi; Naczki, 1995; Silva; Rogez; Larondelle, 2009).

3.4 Espécie *Eugenia uniflora* L. (Pitangueira)

Os óleos essenciais extraídos das folhas de *E. uniflora* têm sido amplamente estudados devido à sua composição química diversificada, destacando-se principalmente pela presença de sesquiterpenos. Pesquisas recentes, como as conduzidas por Ascari *et al.* (2021), identificaram nos óleos essenciais obtidos das folhas de *E. uniflora* compostos majoritários, como a selina-

1,3,7(11)-trien-8-ona (20,44%) e o óxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (13,34%). Esses compostos foram analisados por meio de técnicas avançadas, como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e ressonância magnética nuclear (RMN), que permitiram uma caracterização precisa dos constituintes químicos presentes. Complementando esses achados, Oliveira *et al.* (2017) também identificaram a selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (20,4% a 43,3%) e seu epóxido (15,4% a 27,6%) como os principais constituintes dos óleos essenciais das folhas de *E. uniflora*. Além disso, esses autores observaram a presença de sesquiterpenos não oxigenados, como (E)-cariofileno (3,6% a 6,4%) e γ -elemeno (7,4% a 10,6%), reforçando a complexidade química desses óleos.

Essa diversidade química não se limita apenas aos estudos recentes. Trabalhos anteriores, como os de Ogunwande, Oluwadipo e Adebayo (2005) e Wyerståhl *et al.* (1988), já haviam relatado a presença de furanodieno (9,6% a 14,3%) e selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (17,8% a 31,2%) em proporções significativas nos óleos essenciais das folhas de *E. uniflora*. Esses achados corroboram a riqueza em sesquiterpenos desses extratos e sugerem que a composição química dos óleos essenciais pode variar de acordo com fatores como a região de coleta e as condições ambientais.

Essa variabilidade foi ainda mais explorada em estudos que investigaram a influência de diferentes localidades e épocas de coleta na composição dos óleos. Por exemplo, Limberger *et al.* (2004) identificaram a presença de β -cariofileno (5,8%) e α -humuleno (4,2%) como componentes importantes nos óleos essenciais de *E. uniflora*, enquanto Zoghbi, Andrade e Maia (1999) relataram a ocorrência de óxido de cariofileno (6,1%) e espatulenol (3,5%) em amostras coletadas na região amazônica. Esses estudos destacam que a origem geográfica das folhas pode influenciar significativamente o perfil químico dos óleos essenciais. Além disso, Marques *et al.* (2010) investigaram a variabilidade sazonal dos óleos essenciais de *E. uniflora*, observando maiores concentrações de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (até 43,3%) durante o período chuvoso. Essa sazonalidade foi confirmada por Costa *et al.* (2009), que demonstraram mudanças significativas na composição dos óleos essenciais ao longo do ano.

Essa variabilidade química não apenas evidencia a complexidade dos óleos essenciais das folhas de *E. uniflora*, mas também sugere um potencial biológico significativo, que pode variar de acordo com os compostos majoritários presentes. A compreensão dessas variações é fundamental para aplicações futuras, seja na área da alelopatia, farmacológica, cosmética ou de aromaterapia, destacando a importância de estudos contínuos sobre os métodos de extração e as condições que influenciam a composição química desses óleos.

3.5 Metabolismo vegetal

Os compostos produzidos pelas plantas podem ser classificados em dois grandes grupos, conforme descrito por Simões *et al.* (2017). O primeiro grupo corresponde aos metabólitos primários, macromoléculas essenciais para funções obrigatórias, incluindo lipídeos, proteínas e carboidratos. Já o segundo grupo abrange os metabólitos secundários, que são micromoléculas derivadas de rotas biossintéticas complexas e altamente demandantes de energia. Embora os metabólitos secundários não sejam fundamentais para a sobrevivência imediata das plantas, eles exercem funções essenciais para sua manutenção e adaptação ao ambiente. Essas substâncias desempenham um papel crucial na proteção contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores, dispersão de sementes, defesa contra estresses ambientais e até mesmo na competição entre espécies por meio da alelopatia (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Além disso, esses compostos apresentam ampla diversidade química e podem ser utilizados para a diferenciação taxonômica de plantas, como ocorre com as betalainas e antocianinas, que não coexistem na mesma espécie (Peres, 2024). Os metabólitos secundários podem ser agrupados em três principais classes: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides. Os terpenos, sintetizados a partir do ácido mevalônico e do piruvato, estão presentes em óleos essenciais e resinas, e possuem funções como atração de polinizadores e defesa contra predadores (Peres, 2024).

Já os compostos fenólicos, derivados do ácido chiquímico, incluem flavonoides, ligninas e taninos, sendo fundamentais na proteção contra radiação UV, microrganismos e herbívoros. Alguns fenólicos, como o ácido caféico e o ácido ferúlico, também apresentam ação alelopática, inibindo o crescimento de plantas concorrentes (Peres, 2024). Os alcaloides, por sua vez, são compostos nitrogenados derivados de aminoácidos e podem atuar como defesas químicas naturais contra predadores e patógenos. Além disso, muitos alcaloides têm importância medicinal, sendo amplamente empregados na indústria farmacêutica (Peres, 2024).

A biossíntese e o armazenamento dessas substâncias variam entre as espécies e podem ocorrer em diferentes compartimentos celulares, como vacúolos, tricomas glandulares e canais resiníferos. Além disso, a produção de alguns metabólitos secundários pode ser estimulada por fatores ambientais, como estresse hídrico, mudanças de temperatura ou ataque de herbívoros (Peres, 2024). Apesar de não serem essenciais para o crescimento das plantas, esses compostos apresentam grande relevância ecológica e econômica. Muitos são utilizados na produção de fármacos, cosméticos, pesticidas naturais e bioherbicidas, além de servirem como corantes e

fragrâncias. Seu potencial de aplicação continua sendo estudado, com o objetivo de desenvolver alternativas sustentáveis para a indústria e a agricultura (Peres, 2024).

3.6 Alelopatia

A alelopatia é um fenômeno natural que envolve a interação química entre organismos, sendo definida como o estudo dos efeitos de metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos no crescimento e desenvolvimento de outros organismos. Esses efeitos podem ser positivos ou negativos, dependendo da natureza dos compostos liberados e da espécie-alvo (Macias; Gallindo; Molinillo, 2000). Os aleloquímicos, substâncias responsáveis por esses efeitos, interferem diretamente em processos fisiológicos fundamentais, como germinação, divisão celular, crescimento radicular, fotossíntese e absorção de nutrientes, podendo impactar tanto a dinâmica ecológica das plantas quanto a produtividade agrícola (Duke *et al.*, 2002).

As plantas competem liberando metabólitos especializados no solo, modificando sua composição química e criando condições favoráveis para si mesmas ou inibindo o crescimento de espécies concorrentes (Taiz *et al.*, 2021). Esses compostos são excretados por meio de exsudação radicular, volatilização, lixiviação e decomposição de resíduos vegetais. A exsudação radicular ocorre quando as raízes liberam substâncias químicas que alteram a estrutura do solo, promovendo a absorção de nutrientes ou a proteção contra a toxicidade de metais pesados (Taiz *et al.*, 2021).

Os efeitos negativos da alelopatia são observados especialmente em espécies invasoras, que utilizam compostos fitotóxicos para suprimir a vegetação nativa e expandir seu domínio ecológico. Um exemplo notório é a centáurea-manchada (*Centaurea maculosa*), uma erva invasora que se espalhou rapidamente na América do Norte. Originária da Europa, essa espécie libera no solo metabólitos secundários fitotóxicos, como a ($\pm$)-catequina, uma substância capaz de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) no meristema radicular de plantas sensíveis, desencadeando uma cascata de sinalização de cálcio (Ca^{2+}) e mudanças na expressão gênica. Estudos demonstram que, em apenas uma hora de exposição, a catequina ativa cerca de 1.000 genes em *Arabidopsis thaliana*, sendo que muitos desses genes são reprimidos em 12 horas, levando à morte celular (Taiz *et al.*, 2021).

Além das substâncias liberadas por espécies invasoras, os óleos essenciais também demonstram forte atividade alelopática, afetando diretamente a germinação, a divisão celular e o crescimento das plântulas (Duke *et al.*, 2002). Essas substâncias influenciam processos

fundamentais, como atividade enzimática, permeabilidade da membrana celular e síntese de proteínas, comprometendo o metabolismo das plantas-alvo e reduzindo sua taxa de crescimento. Por essas características, os aleloquímicos vêm sendo amplamente estudados como potenciais bioherbicidas naturais, representando alternativas mais sustentáveis ao uso de herbicidas sintéticos, que frequentemente causam impactos ambientais severos (Almeida *et al.*, 2019).

3.7 Óleos essenciais

Óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, são misturas complexas de compostos orgânicos, apresentam consistência oleosa em temperatura ambiente e alta volatilidade. São solúveis em solventes apolares, como éteres, e extremamente valorizados por seus aromas intensos, sendo encontrados em diversas partes das plantas, como folhas, flores, cascas e raízes, desempenhando funções ecológicas e biológicas essenciais (Simões *et al.*, 2017). Essas substâncias desempenham funções biológicas para as plantas, incluindo atividades antivirais, inseticidas, antifúngicas, antioxidantes e proteção contra herbívoros. Grande parte dessas propriedades é atribuída à presença de compostos terpênicos, metabólitos secundários que conferem aos óleos essenciais sua bioatividade (Bakkali *et al.*, 2008).

Além de suas funções biológicas, estudos demonstram que os óleos essenciais apresentam propriedades alelopáticas, podendo inibir ou induzir a germinação de sementes e o crescimento de plantas adjacentes (Duke *et al.*, 2002). A composição química dos óleos varia, de acordo com a parte da planta utilizada, a época da colheita, as condições climáticas e as características físico-química do solo (Simões *et al.*, 2017). Corroborando com Qaderi, Martel e Strugnell (2023) que destacam a importância de compreender a interação entre fatores ambientais e a produção de metabólitos secundários para o desenvolvimento de bioprodutos agrícolas.

Devido a essas propriedades, os óleos essenciais surgem como uma alternativa promissora aos defensivos agrícolas, oferecendo soluções ambientais sustentáveis para o manejo de culturas. Sua utilização pode reduzir o impacto ambiental associado ao uso de agroquímicos, ao mesmo tempo que promove práticas agrícolas economicamente viáveis e alinhadas aos princípios da sustentabilidade (Almeida *et al.*, 2019).

3.8 Bioensaios para Avaliação do Efeito Alelopático

Os bioensaios são metodologias amplamente utilizadas para investigar os efeitos dos aleloquímicos sobre o desenvolvimento vegetal. Esses ensaios permitem a análise da germinação, crescimento radicular e desenvolvimento da parte aérea das plântulas, fornecendo dados sobre a toxicidade ou efeito promotor de crescimento de compostos presentes em extratos vegetais (Ferreira; Áquila, 2000).

Dentre as espécies frequentemente utilizadas em bioensaios, a *L. sativa*, popularmente conhecida como alface, destaca-se como modelo experimental devido à sua alta sensibilidade aos efeitos dos aleloquímicos (Fritz *et al.*, 2007). Estudos demonstram que a prevenção da germinação e a inibição do crescimento radicular em algumas espécies vegetais estão frequentemente associadas à liberação de compostos alelopáticos no ambiente (Fritz *et al.*, 2007). A alface é considerada uma espécie ideal para bioensaios de toxicidade vegetal e testes de potencial herbicida, sendo amplamente utilizada para avaliar o impacto de substâncias alelopáticas em processos fisiológicos como divisão celular, absorção de nutrientes e crescimento da parte aérea (Ferreira; Áquila, 2000).

A identificação de substâncias com atividade alelopática é um passo fundamental para compreender seus mecanismos de ação e seu potencial uso na agricultura como alternativa ecológica aos herbicidas químicos (Duke *et al.*, 2002). Os bioensaios fornecem dados preliminares sobre a intensidade e os efeitos dos aleloquímicos, mas a confirmação desses impactos requer análises mais detalhadas. Para isso, são empregadas técnicas de caracterização química e quantificação de compostos fenólicos e outros metabólitos secundários presentes nas amostras vegetais (Collins; Braga; Bonato, 2006).

3.9 Caracterização química por técnicas cromatográficas

A cromatografia é um método físico-químico de separação baseado nas diferenças de migração dos compostos de uma mistura, que ocorrem devido às interações entre uma fase móvel e uma fase estacionária. No decorrer do processo, os compostos são distribuídos entre as duas fases de maneira que cada substância fica retida separadamente na fase estacionária promovendo diferentes migrações (Collins; Braga; Bonato, 2006).

A identificação e quantificação dos compostos responsáveis pelos efeitos alelopáticos observados nos bioensaios são realizadas por meio de técnicas cromatográficas, que permitem a separação, detecção e caracterização dos metabólitos presentes nos extratos vegetais (Collins; Braga; Bonato, 2006). A cromatografia é um método físico-químico de separação baseado nas diferenças de migração dos compostos de uma mistura, ocorrendo devido às interações dos compostos com uma fase móvel e uma fase estacionária. Cada substância apresenta um tempo de retenção distinto, permitindo sua identificação e quantificação (Collins; Braga; Bonato, 2006).

Essas metodologias permitem correlacionar a presença de determinados compostos com os efeitos observados nos bioensaios, possibilitando a seleção de substâncias promissoras para o desenvolvimento de bioherbicidas naturais. Além disso, a caracterização química contribui para a compreensão dos mecanismos de ação dos aleloquímicos, auxiliando na redução do impacto ambiental dos agroquímicos convencionais e promovendo uma agricultura mais sustentável (Duke *et al.*, 2002).

3.9.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A Cromatografia em Camada Delgada (CCD) é uma técnica analítica amplamente utilizada para a separação e identificação de componentes em uma mistura. Essa metodologia baseia-se na migração diferencial dos componentes sobre uma camada delgada de adsorvente, como a sílica, aplicada em uma superfície plana. A CCD destaca-se por sua simplicidade, rapidez e pelo uso de pequenas quantidades de amostra, sendo ideal para análises qualitativas preliminares e monitoramento de reações químicas (Collins; Braga; Bonato, 2006).

No entanto, para análises que exigem maior sensibilidade, precisão quantitativa e capacidade de identificar compostos em misturas complexas, técnicas mais avançadas são recomendadas. A Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) combina a eficiência de separação da cromatografia gasosa com a capacidade de identificação precisa da espectrometria de massas, permitindo a elucidação estrutural detalhada dos compostos (Collins; Braga; Bonato, 2006).

Por sua vez, a Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama (CG-FID) é amplamente utilizada para a quantificação de compostos orgânicos. O detector FID é sensível a uma ampla gama de compostos e oferece alta sensibilidade e precisão na quantificação, sendo uma técnica indispensável para análises quantitativas confiáveis (FARMÁCIA UFMG, s.d.).

Portanto, enquanto a CCD é adequada para triagens iniciais e análises qualitativas, a CG-EM e a CG-FID são preferíveis quando se busca uma identificação precisa e quantificação exata dos componentes de uma mistura, especialmente em matrizes complexas.

3.9.2 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM)

A Cromatografia Gasosa (CG) é uma técnica analítica amplamente utilizada para separar e analisar compostos voláteis. No processo, a amostra é injetada em um injetor aquecido, onde é vaporizada e transportada por um gás de arraste (como hélio ou nitrogênio). Esse gás leva os compostos até uma coluna cromatográfica, que contém uma fase estacionária ligada à parede interna do tubo capilar. A separação ocorre porque cada composto interage de forma diferente com a fase estacionária, resultando em tempos de retenção distintos (FARMÁCIA UFMG, s.d.).

Quando a Cromatografia Gasosa é acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), a técnica ganha maior capacidade de identificação estrutural e quantificação precisa dos compostos. Após a separação dos componentes na coluna cromatográfica, o efluente é direcionado ao espectrômetro de massas, onde os compostos são ionizados, geralmente por impacto eletrônico. Esse processo resulta na fragmentação das moléculas, gerando íons que são analisados com base na razão massa/carga (m/z). O espectrômetro gera um espectro de massas característico para cada substância, que funciona como uma "impressão digital", permitindo a identificação precisa dos compostos em bancos de dados como os do *National Institute of Standards and Technology* (NIST) (Skoog *et al.*, 2006; Harvey, 2000).

A quantificação dos compostos é realizada com base na intensidade dos picos no espectro de massas, sendo que os picos maiores indicam maior concentração relativa das substâncias analisadas. Essa abordagem combina a eficiência de separação da CG com a especificidade da EM, tornando-se uma técnica essencial para análises de compostos orgânicos voláteis e semivoláteis em diversas áreas, como química forense, ambiental, farmacêutica e controle de qualidade (Souza; Lopes; Silva, 2018; Amorim, 2024).

3.9.3 CG-FID: detector de ionização por chama

O detector de ionização por chama (FID) é amplamente utilizado em cromatografia gasosa (CG) devido à sua elevada sensibilidade e seletividade para compostos orgânicos. Seu funcionamento baseia-se na ionização térmica de compostos contendo carbono, que ocorre durante a combustão em uma chama composta por hidrogênio e ar. Essa combustão gera íons e elétrons livres, resultando em uma corrente elétrica proporcional à concentração de carbono presente na amostra (Harvey, 2000; Skoog *et al.*, 2006).

A detecção dos íons ocorre entre dois eletrodos: o queimador atua como cátodo, enquanto o ânodo metálico é posicionado próximo à chama. Essa configuração confere alta seletividade ao FID, pois substâncias inorgânicas, como água e dióxido de carbono, geram pouca ou nenhuma resposta, reduzindo interferências e tornando o detector confiável para a análise de compostos de carbono (Harvey, 2000; Skoog *et al.*, 2006).

Na ausência de compostos orgânicos, o sinal de fundo do FID permanece constante e baixo. Quando moléculas contendo carbono estão presentes, ocorre um aumento na ionização, gerando um sinal elétrico proporcional à concentração de carbono na amostra. Essa linearidade e alta sensibilidade fazem do FID uma ferramenta essencial para a quantificação precisa de compostos orgânicos (Amorim, 2019; Harvey, 2000).

4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização química por técnicas cromatográficas

A amostra de óleo essencial das folhas de *E. uniflora* (pitanga), da marca Legeé, foi adquirida em comércio local de Santa Helena, Paraná. Devido ao tempo limitado para os testes, optou-se pela aquisição de um óleo essencial comercial de uma fonte confiável. A caracterização do óleo essencial foi realizada utilizando as técnicas de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama (CG-FID) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM).

A análise por CCD foi realizada no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Santa Helena, utilizando cromatoplasmas recobertas com sílica em gel 60 HG/254 (Macherey-Nagel) como fase estacionária. Inicialmente, foi utilizada a fase móvel composta apenas por hexano, porém os compostos permaneceram retidos na fase estacionária. Para otimizar a separação, foi adicionada uma porção de acetato de etila (90:10, v/v), permitindo uma melhor migração dos compostos. A amostra foi diluída em hexano e aplicada nas cromatoplasmas com capilares de vidro. A eluição ocorreu em uma câmara cromatográfica saturada com fase móvel, possibilitando a separação dos compostos. Após a eluição, as placas foram visualizadas sob luz UV (254 nm) e posteriormente tratadas com o reagente Anisaldeído/ H_2SO_4 , seguido de aquecimento a 110°C , para a revelação de compostos terpênicos.

Figura 1 – Câmara cromatográfica utilizando béquer tampado com placa de Petri



Fonte: autoria própria.

As análises por CG-FID e CG-EM foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (RS, Brasil). A CG-FID foi utilizada para a quantificação dos constituintes, enquanto a CG-EM permitiu a identificação dos compostos por meio da comparação dos espectros de massa com o banco de dados NIST-05a. O índice de retenção linear (LRI) foi calculado utilizando a equação de Van den Dool e Kratz, comparando-se os valores obtidos com os disponíveis no NIST Chemistry WebBook (SRD 69, 2022).

A análise por CG-FID foi realizada em um Shimadzu 2010 Plus GC, equipado com coluna capilar HP-Innowax (30 m × 0,32 mm × 0,50 µm). O programa de temperatura foi iniciado em 40 °C por 8 min, seguido de aumentos para 180 °C a 3 °C/min e 230 °C a 20 °C/min, sendo mantido por 10 min. O injetor e detector operaram a 250 °C, com gás de arraste hidrogênio a 34 kPa, split 1:50 e volume injetado de 1,0 µL (diluído em hexano 1:10).

A CG-EM foi conduzida em um Hewlett-Packard 6890/MSD5973, utilizando o software MSD ChemStation (v. D03.00.611). A coluna utilizada foi a HP-Innowax (30 m × 0,25 mm, 0,50 µm), seguindo o mesmo programa de temperatura do CG-FID. O sistema operou com interface a 280°C, split 1:20, gás de arraste hélio a 56 kPa, fluxo de 1,0 mL/min, energia de ionização de 70 eV e volume injetado de 1 µL de óleo essencial diluído em hexano (1:10). Os compostos foram identificados comparando os espectros de massa com bancos de dados de referência, garantindo maior precisão na determinação dos constituintes.

4.2 Bioensaio de Germinação e Crescimento

Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Botânica da UTFPR, Campus Santa Helena, utilizando sementes de *L. sativa* (marca Isla) adquiridas no comércio local. As sementes apresentaram germinatividade de 99%, pureza de 100% e grau de umidade de 4,8%, conforme as Regras de Análises de Sementes (Brasil, 2009).

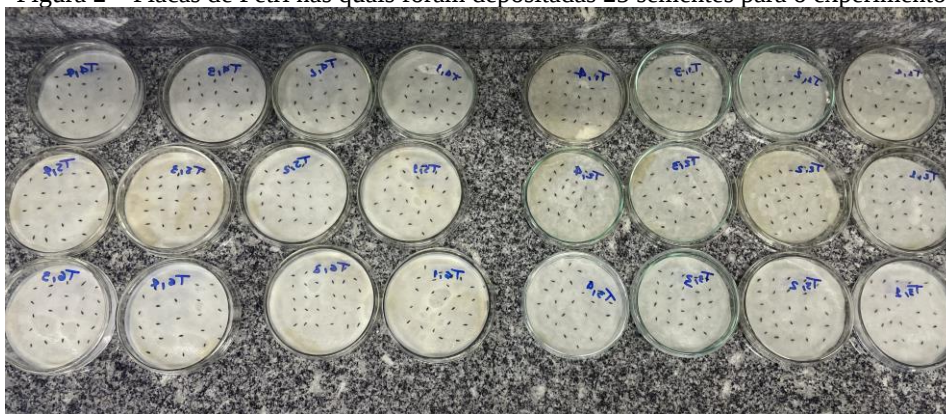
A empresa ISLA Sementes, que foi feita a aquisição das sementes do presente trabalho, segue rigorosos padrões de qualidade na produção e comercialização de sementes de alface (*L. sativa*), atendendo às Regras para Análise de Sementes (RAS) estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Essas regras definem os procedimentos padronizados para avaliação de pureza, germinação e vigor, garantindo a qualidade das sementes comercializadas no Brasil (BRASIL, 2009; ISLA, 2024).).

Além disso, a empresa está em conformidade com a Instrução Normativa nº 45/2013 do MAPA, que estabelece critérios específicos para a produção e comercialização de sementes de

hortaliças, incluindo requisitos para pureza genética, germinação mínima e certificação (BRASIL, 2013; ISLA, 2024).).

As sementes foram dispostas em placas de Petri contendo papel filtro, e tratadas com

Figura 2 – Placas de Petri nas quais foram depositadas 25 sementes para o experimento



Fonte: autoria própria.

diferentes diluições do óleo essencial (64, 32, 16 e 8 $\mu\text{L/mL}$). Como solvente para a aplicação do óleo essencial, foi utilizado Tween 80 diluído em água destilada, visando melhorar a dispersão do óleo nas amostras. O experimento foi realizado em quadruplicatas, garantindo maior confiabilidade dos resultados. Além dos tratamentos com óleo essencial, foi estabelecido um grupo controle, no qual as sementes foram tratadas apenas com Tween 80 e água destilada, sem a presença do óleo essencial, permitindo a comparação entre os efeitos do óleo e as condições normais de germinação. As placas foram cobertas com plástico para evitar a evaporação do óleo e mantidas em câmara de germinação B.O.D. a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas (RIZVI; RIZVI, 1992).

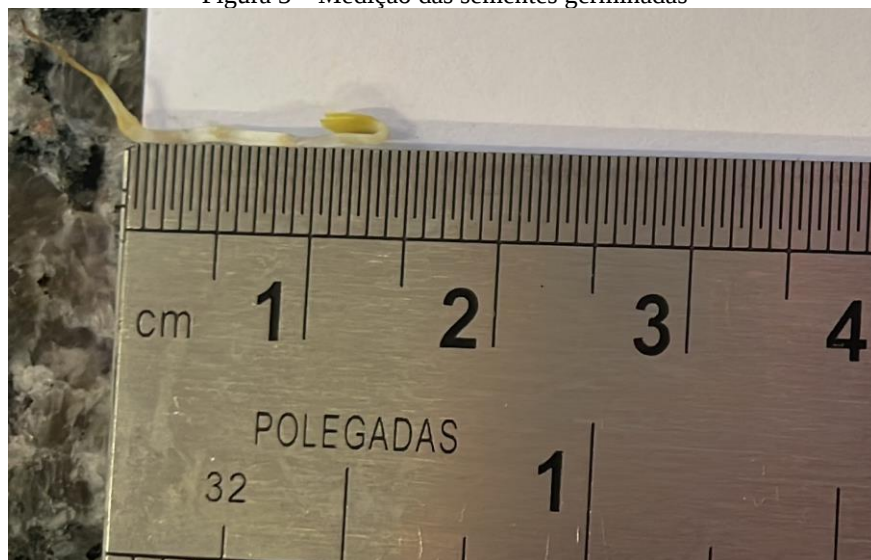
A germinação foi monitorada a cada 24 horas por 6 dias, considerando-se sementes germinadas aquelas que apresentaram protrusão radicular de 2 mm, ao final do período experimental, o crescimento da parte aérea das plântulas foi medido com régua.

Figura 3 – Placas de Petri com sementes germinadas



Fonte: autoria própria.

Figura 3 – Medição das sementes germinadas



Fonte: autoria própria.

Os parâmetros avaliados Ferreira e Borghetti (2004). incluíram a porcentagem de germinação (PG), determinada pela equação $PG = (N/100) \times 100$, onde N representa o número de sementes germinadas ao final do experimento (expresso em porcentagem). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado por $IVG = \sum (n_i/t_i)$, onde n_i é o número de sementes germinadas no tempo t_i , e i representa os dias do experimento. Além disso, foi avaliado o crescimento da parte aérea (APA [cm]), medindo-se a distância entre o colo e o ápice da plântula com auxílio de régua.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SISVAR®, sendo aplicadas para avaliar os efeitos das diferentes concentrações do óleo essencial sobre a

germinação e crescimento das plântulas de *L. sativa*. O objetivo da análise estatística foi determinar se houve diferenças significativas entre os tratamentos, considerando tanto os grupos tratados com óleo essencial quanto o grupo controle, e verificar se o óleo essencial possui potencial efeito inibitório ou estimulante sobre o desenvolvimento das plântulas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização química do óleo essencial por cromatografia em camada delgada (CCD)

A Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foi empregada como uma técnica analítica para a separação e identificação dos compostos presentes no óleo essencial de *E. uniflora*. A análise foi conduzida utilizando cromatoplasas recobertas com sílica gel 60 F254, que atuou como fase estacionária devido ao seu caráter polar. A sílica gel é amplamente utilizada em CCD por sua eficiência na separação de compostos orgânicos, especialmente em misturas complexas como óleos essenciais, que contêm uma variedade de terpenóides e outros metabólitos secundários (Wagner & Bladt, 1996).

Inicialmente, o hexano foi selecionado como fase móvel devido à sua baixa polaridade. No entanto, observou-se que essa condição não proporcionou uma separação eficiente dos compostos, uma vez que a maioria deles permaneceram retida na fase estacionária, indicando uma interação excessiva com a sílica gel. Para otimizar a separação, foi adicionada uma fração de acetato de etila ao hexano, resultando em uma mistura de solventes na proporção de 90:10 (v/v) de hexano/acetato de etila. Essa modificação aumentou a polaridade da fase móvel, permitindo uma migração mais adequada dos compostos ao longo da placa cromatográfica. A escolha dessa proporção foi baseada em estudos prévios, como os de Stahl (1969), que destacam a importância de ajustar a polaridade da fase móvel para obter uma separação eficaz em CCD.

A aplicação da amostra do óleo essencial foi realizada utilizando capilares de vidro, que permitem uma deposição precisa e uniforme da amostra na placa. A eluição foi conduzida em uma câmara cromatográfica previamente saturada com a fase móvel, um procedimento essencial para garantir uma migração homogênea dos compostos e evitar a formação de distorções nas manchas cromatográficas. Após a eluição, observou-se que os compostos menos polares, migraram para a região superior da placa, devido à sua menor afinidade com a sílica gel. Por outro lado, os compostos mais polares, permaneceram nas regiões inferiores, evidenciando uma maior interação com a fase estacionária. Esse comportamento é consistente com o princípio da CCD, onde a polaridade relativa dos compostos e da fase móvel determina a migração diferencial (Reich & Schibli, 2007).

Para a visualização dos compostos separados, foi utilizado o reagente anisaldeído sulfúrico, amplamente reconhecido por sua eficácia na detecção de terpenóides e outros compostos orgânicos presentes em óleos essenciais. Após a pulverização do reagente, as placas

foram aquecidas a 110°C, o que induziu a formação de manchas coloridas características para cada classe de compostos. A coloração das manchas variou de acordo com a natureza química dos compostos, sendo que os terpenóides, por exemplo, apresentaram tonalidades que variaram do rosa ao violeta, enquanto outros compostos exibiram cores distintas. A eficácia do anisaldeído sulfúrico como reagente de revelação é corroborada por estudos como o de Wagner & Bladt (1996), que destacam sua sensibilidade e seletividade para a detecção de terpenóides em matrizes complexas.

Além da identificação visual, a CCD também permitiu a obtenção de informações sobre a complexidade da amostra, evidenciando a presença de múltiplos compostos no óleo essencial de *E. uniflora*. Essa técnica, embora simples e de baixo custo, mostrou-se altamente eficiente para a análise preliminar de óleos essenciais, fornecendo dados valiosos que podem ser complementados por técnicas mais sofisticadas, como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

Figura 4 – Cromatoplaça do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L., evidenciando os compostos separados por polaridade, revelados com anisaldeído sulfúrico.



Fonte: autoria própria.

5.2 Caracterização química por cromatografia gasosa (CG-EM) e (CG-FID)

O óleo essencial das folhas de *E. uniflora* (pitanga) utilizado neste estudo foi adquirido de uma fonte comercial confiável, a marca Legeé. A escolha de um óleo comercial foi uma decisão estratégica, pois assegurou um produto padronizado e com qualidade controlada,

elementos essenciais para garantir consistência nos resultados dentro do tempo restrito disponível para a pesquisa. O óleo foi obtido por destilação a vapor, processo amplamente reconhecido por preservar a integridade dos compostos ativos presentes nas folhas de *E. uniflora*. A marca Legeé descreve o curzereno e o germacreno B como os principais compostos do óleo, reconhecidos por suas propriedades terapêuticas e aromáticas (LEGEE, 2025). Embora a marca destaque esses compostos, não são fornecidas as porcentagens exatas, o que torna fundamental uma análise mais detalhada do produto.

A análise química do óleo essencial do presente estudo revelou uma composição predominantemente formada por sesquiterpenos, destacando-se compostos como o óxido-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (21,14%), curzereno (20,5%), germacreno B (11,19%) e selina-3,5,7(11)-trien-8-ona (10,99%). Esses resultados não só confirmam a presença dos compostos mais destacados pela marca Legeé, como também indicam a complexidade e a diversidade do óleo essencial.

A concentração de curzereno observada neste estudo (20,5%) é substancialmente mais alta do que a reportada por Ascari *et al.* (2021), que encontraram curzereno em 4,72%, realizando a extração o óleo essencial das folhas de *E. uniflora* utilizando o método de hidrodestilação. De maneira similar, a presença de germacreno B (11,19%) foi significativamente superior à concentração encontrada por Ascari *et al.* (2021) (1,74%), mas mais próxima dos resultados obtidos por Santos *et al.* (2014), que identificaram 12,7% desse composto.

Além dos compostos majoritários, a análise revelou a presença de compostos minoritários com concentrações inferiores a 5%, como β -mirceno (0,69%), 1,8-cineol (1,14%), cis- β -ocimeno (3,64%), entre outros. Embora em menores quantidades, esses compostos desempenham um papel significativo na composição aromática e terapêutica do óleo. Compostos como o β -mirceno, por exemplo, são amplamente reconhecidos por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (Santos *et al.*, 2014). Dessa forma, a combinação desses compostos majoritários e minoritários contribui para o efeito sinérgico do óleo essencial de *E. uniflora*, potencializando suas propriedades terapêuticas.

A diversidade de compostos encontrados no óleo é uma característica intrínseca aos óleos essenciais de *E. uniflora*, que podem apresentar diferentes perfis químicos, dependendo de uma série de fatores, como o método de extração, a época da colheita e as condições ambientais (Pino *et al.*, 2010; Koleva *et al.*, 2019).

Para garantir a precisão na identificação dos compostos presentes no óleo essencial, foi realizado o cálculo do índice de retenção linear (LRI) de cada composto identificado. O LRI é

um parâmetro essencial para a análise cromatográfica, permitindo a comparação do tempo de retenção de cada composto com os padrões conhecidos, assegurando a confiabilidade da análise. A Tabela 1 apresenta os compostos identificados, seus respectivos valores de LRI calculados, juntamente com os valores de LRI encontrados na literatura (NIST), reforçando a precisão dos dados obtidos (Pawliszyn, 2012).

$$LRI = 100 \times \left(n + \frac{(t_R - t_{R,n})}{(t_{R,n+1} - t_{R,n})} \right) \times 100$$

Onde:

- t_R = Tempo de retenção do composto desconhecido (em minutos).
- $t_{R,n}$ = Tempo de retenção do composto com o menor número de índice n (em minutos).
- $t_{R,n+1}$ = Tempo de retenção do composto com o índice $n + 1$ (em minutos).
- n = Índice do composto de retenção mais próximo.

Tabela 1 – Compostos identificados no óleo essencial OEP através de cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas e posterior cálculo do índice de retenção linear

	LRI Calculado¹	LRI Literatura NIST	Composto identificado	Percentual relativo² %
1	993	988	b-mirceno	0,69
2	1037	1026	1.8-cineol	1,14
3	1048	1044	cis-b-ocimeno	3,64
4	1334	1345	α -cubebeno	0,32
5	1390	1389	β -elemeno	2,88
6	1414	1417	cariofileno	2,97
7	1431	1434	y-elemeno	0,45
8	1477	1484	germacreno D	4,13
9	1493	1500	bici-clogermacrano	3,13
10	1505	1506	curzereno	20,5
12	1523	1532	epiglobulol	0,69
13	1556	1559	germacreno B	11,19
14	1639	1635	selina-3,5,7(11)-trien-8-ona	10,99
15	1643	1624	selina-6-en-4-ol	1,36
16	1658	1640	espatulenol	1,6
17	1701	1689	óxido-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	21,14
18	1702	1693	germacreno	4,67
19	1704	1753	furanodieno	1,73
Total identificado				93,22

¹ Calculado com base no espectro de GC-MS. ² Calculado com base no espectro de GC-FID.

Fonte: (autoria própria)

5.3 Bioensaios de germinação e crescimento

Os bioensaios realizados com o óleo essencial de *E. uniflora* evidenciaram uma resposta dose-dependente no crescimento da parte aérea (Δ PA), refletindo efeitos diferentes sobre os processos fisiológicos de *L. sativa*. A porcentagem de germinação (PG) variou entre 97% (controle) e 85% (64 μ L/mL), sem diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), conforme apresentado na Tabela 2. De maneira semelhante, o índice de velocidade de germinação (IVG) manteve-se estável, indicando que os compostos bioativos presentes no óleo essencial não interferem nos processos iniciais, como embebição, quebra de dormência e ativação metabólica das sementes.

Os tratamentos com diferentes concentrações do óleo (64, 32, 16 e 8 μ L/mL) *E. uniflora* não apresentaram impacto significativo no IVG e na PG de *L. sativa*, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (G) e crescimento da parte aérea (Δ PA [cm]) da parte aérea de sementes de *Lactuca sativa* submetidas ao tratamento com extrato com óleo essencial de *Eugenia uniflora*.

TRATAMENTO	IVG	PG	Δ PA(mm)
Concentrações (μ L/mL)			
0	9,604 a	97 a	23,42a
8	8,722 a	92 a	11,35b
16	8,401 a	92 a	6,72c
32	8,266 a	88 a	5,12c
64	8,084 a	85 a	4,82 c
CV	10,78	6,37	17,96

* Letras distintas nas colunas indicam diferença estatisticamente significativa, conforme o teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: autoria própria.

No entanto, o crescimento da parte aérea (Δ PA) foi significativamente reduzido à medida que a concentração de óleo essencial aumentou. O grupo controle apresentou um crescimento de 23,42 mm, enquanto a maior concentração (64 μ L/mL) alcançou apenas 4,82 mm, conforme mostrado na Tabela 2. A análise estatística revelou que o Δ PA apresentou três grupos significativamente diferentes. Contudo, após a concentração de 16 μ L/mL, não houve mais diferenças significativas entre os grupos conforme mostrado na Tabela 2.

A caracterização química do óleo essencial de *E. uniflora* (Tabela 1) identificou como compostos majoritários, sesquiterpenos, como curzereno (20,5%), óxido-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (21,14%), germacreno B (11,19%) e selina-3,5,7(11)-trien-8-ona (10,99%). De acordo com Ferreira, (2000), os sesquiterpenos são uma classe de compostos amplamente presentes em óleos essenciais, os compostos identificados na caracterização química do óleo essencial

das folhas de *E. uniflora*, como curzereno, óxido-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, germacreno B e selina-3,5,7(11)-trien-8-ona, também pertencem a essa classe. A análise revelou que aproximadamente 63,82% do óleo é composto por sesquiterpenos, o que confirma a predominância dessa classe química. Compostos como curzereno (20,5%), óxido-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (21,14%), germacreno B (11,19%) e selina-3,5,7(11)-trien-8-ona (10,99%) são os principais responsáveis por essa concentração significativa, destacando a importância dos sesquiterpenos nas propriedades terapêuticas do óleo essencial de *E. uniflora*.

Apesar do potencial alelopático observado, há uma carência de estudos na literatura que explora diretamente os efeitos alelopáticos do óleo essencial de *E. uniflora*. A maioria das pesquisas concentra-se em suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e farmacológicas, devido à relevância medicinal da espécie. Entretanto, trabalhos como o de Lopes (2008) revelam que o óleo essencial das folhas de *E. uniflora* interfere no desenvolvimento radicular de *Sorghum bicolor* (sorgo) e *Cucumis sativus* (pepino), espécies sensíveis a composições bioativas (Jonas, 2020). Em concentrações baixas, o óleo essencial estimula o crescimento radicular do pepino, destacando sua capacidade de modular o desenvolvimento vegetal (Lopes, 2008).

Outras espécies do gênero *Eugenia* também tiveram efeitos alelopáticos em *L. sativa*, porém os estudos foram realizados com o extrato de suas folhas. Por exemplo, extratos aquosos de *Eugenia disenterica* reduziram significativamente o crescimento radicular e do hipocótilo de plântulas (Melo; Giotto; Silva, 2007). De forma semelhante, *Eugenia pyriformis* é suprimida tanto na germinação quanto no crescimento inicial de *L. sativa* (Rodrigues *et al.*, 2018).

Os resultados deste trabalho indicam que o óleo essencial de *Eugenia uniflora* apresenta uma ação e maneira mais direcionada e dose-dependente no desenvolvimento pós-germinativo de *L. sativa*. Na Tabela 2, observa-se que, embora a porcentagem de germinação (PG) se mantenha estável em todas as concentrações, o crescimento da parte aérea (APA) diminui substancialmente com o aumento da concentração do óleo essencial. Isso demonstra que os efeitos do óleo se restringem principalmente aos estágios pós-germinativos, como evidenciado pela redução no crescimento da parte aérea em concentrações mais altas.

Esses resultados são consistentes com os de Hüller e Schock (2011), que não observaram efeitos relevantes sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de *L. sativa* quando expostas a extrato de *E. uniflora*, mas diferem no fato de que, neste trabalho, o óleo essencial demonstrou uma ação mais marcante nas fases pós-germinativas. A diferença pode ser atribuída à composição química do óleo, rica em sesquiterpenos, como o curzereno e o germacreno B, que provavelmente desempenham um papel importante nesse comportamento,

destacando o potencial alelopático seletivo do óleo. Ou seja, os compostos bioativos presentes no óleo atuam de maneira mais incisiva em etapas específicas do ciclo de vida das plantas, afetando principalmente o crescimento da parte aérea após a germinação, como foi observado na diminuição do Δ PA com o aumento da concentração do óleo (Ferreira; Áquila, 2000).

Portanto, os resultados deste trabalho sugerem que o óleo essencial de *E. uniflora* possui um efeito alelopático seletivo, sendo mais ativo nos estágios pós-germinativos, o que difere de outros estudos que não encontraram efeitos significativos nos estágios iniciais do desenvolvimento das plantas.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que o óleo essencial de *E. uniflora* apresenta um efeito alelopático seletivo, com maior impacto nos estágios pós-germinativos do desenvolvimento de *L. sativa*. Embora a germinação não tenha sido significativamente afetada, observou-se uma redução no crescimento da parte aérea com o aumento das concentrações do óleo essencial. A composição química do óleo, rica em sesquiterpenos como curzereno e germacreno B, provavelmente contribui para esse efeito, sugerindo uma ação direcionada em estágios específicos do ciclo de vida da planta. Esses achados abrem possibilidades para futuras pesquisas sobre o potencial de aplicação do óleo essencial de *E. uniflora* em práticas agrícolas, especialmente no controle de crescimento de plantas indesejadas, com foco na dosagem e concentração adequadas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. *et al.* Bioatividade de óleos essenciais na germinação e no vigor em sementes de tomate. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 2, p. 13-21, 2019.

AMORIM, A. F. V. **Métodos cromatográficos**. Fortaleza: Editora da UECE, 2019.

AMORIM, J. P. **Aplicações da cromatografia gasosa na análise de compostos orgânicos**. *Revista de Química Aplicada*, v. 12, n. 3, p. 45-58, 2019.

ASCARI, J. *et al.* Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e óxido-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona do óleo essencial de folhas de *Eugenia uniflora* e seus efeitos citotóxicos em linhas celulares humanas. **Moléculas**, Basel, v. 26, n. 3, p. 740, 2021.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils: A review. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BELANDI, C. IBGE atualiza estatísticas das espécies ameaçadas de extinção nos biomas brasileiros. **Agência IBGE de Notícias**, Brasília, DF, 25 maio 2023. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/36972-ibge-atualiza-estatisticas-das-especies-ameacadas-de-extincao-nos-biomas-brasileiros>. Acesso em: 24 jan. 2025

BRAGA, F. T.; PINTO, J. E. B. P.; OLIVEIRA, C.; ROSA, L. F.; RODRIGUES, V. A. Respostas fisiológicas e produção de metabólitos secundários em plantas medicinais sob estresse hídrico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 1, p. 51-62, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Informações sistematizadas da Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS: *Eugenia uniflora* L., Myrtaceae (Pitangueira)**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monografia de *Eugenia uniflora* L.. Brasília: ANVISA, 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/aceso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/2017/arquivos/MonografiaEugeniauniflora.pdf>. Acesso em: 16 fev. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Agrotóxicos na ótica do Sistema Único de Saúde**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf. Acesso em: 16 fev. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013**. Brasília: MAPA, 2013. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrode2013.pdf. Acesso em: 16 fev. 2025.

BOIAGO, N. P.; FORTES, A. M. T.; PILATTI, D. M.; SILVA, P. S. S. Bioatividade alelopática de extrato aquoso fresco e infuso de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sobre alface e milho. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p. 49-55, 2014. Disponível em: <https://www.redalyc.org/journal/1871/1871.pdf>. Acesso em: 16 fev. 2025.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006.

CONVENÇÃO sobre a diversidade biológica (CDB). [Rio de Janeiro: s. n., 1992]. Disponível em: <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-br.pdf>. Acesso em: 13 out. 2024.

COSTA, D. P. *et al.* Influência de biótipos de frutos na composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de folhas de *Eugenia uniflora*. **Revista da Sociedade Brasileira de Química**, São Paulo, v. 20, n. 6, p. 1060-1064, 2009.

COSTA, M. Análise da separação de substâncias por cromatografia em camada delgada. **Revista de Química Analítica**, [s. l.], p. 123-130, 2019.

DUKE, S. O. *et al.* Chemicals from nature for weed management. **Weed Science**, Cambridge, v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Brasil possui 20% da biodiversidade mundial, mas consome alimentos de outros países**. 21 set. 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/16533355/brasil-possui-20-da-biodiversidade-mundial-mas-consome-alimentos-de-outros-paises>. Acesso em: 16 fev. 2025.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Pitanga – *Eugenia uniflora* L.** Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1106305/1/Pitanga.pdf>. Acesso em: 16 fev. 2025.

FARMÁCIA UFMG. **Cromatógrafo a Gás (CG) acoplado ao Detector de Ionização de Chama (FID)**. Universidade Federal de Minas Gerais. Disponível em: <https://www.farmacia.ufmg.br/cromatografo-a-gas-cg-acoplado-ao-detector-de-ionizacao-de-chama-fid/>. Acesso em: 16 fev. 2025.

FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 1, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

FRITZ, J. H. *et al.* Compostos bioativos com potencial alelopático. **Revista de Estudos Fitotécnicos**, [s. l.], v. 13, p. 55-62, 2007.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 2, p. 374-381, 2007.

GOVAERTS, R. *et al.* **World Checklist of Myrtaceae**. London: Kew Publishing, 2008.

GOVAERTS, R.; MAZINE, F. **Lista de verificação mundial de Myrtaceae**. Londres: Conselho de Curadores do Royal Botanic Gardens, 2024.

HARVEY, D. **Química analítica moderna**. Boston: McGraw-Hill, 2000.

HÜLLER, S.; SCHOCK, A. Avaliação do potencial alelopático de três espécies de *Eugenia* L. (*Myrtaceae*) sobre o processo germinativo de *Lactuca sativa* L. **Revista de Ciências Ambientais**, [s. l.], v. 1, p. 63-74, 2011.

JABRAN, K. Impactos dos agroquímicos na saúde humana e no meio ambiente. **Agricultura e Valores Humanos**, [s. l.], v. 34, p. 155-173, 2017.

JONAS, B. F. **Seleção de espécies vegetais bioindicadoras para avaliação da atividade residual de herbicidas no solo**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Instituto Federal Goiano, Morrinhos, 2020.

JUDD, W. S. *et al.* **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KESZEI, A.; PADOVAN, A. Metabólitos secundários de *Eugenia*. **Journal of Applied Plant Science**, [s. l.], v. 3, p. 88-95, 2014.

Koleva, I. I., et al. (2019). *Techniques for essential oils analysis*. Elsevier.

LEGEE (2025). *Óleo essencial de Eugenia uniflora - Análise e Propriedades*. Legee Produtos Naturais.

LIMBERGER, R. P. *et al.* Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LOPES, M. M. **Composição química, atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de Eugenia uniflora L. e Myrciaria glazioviana (Kiaersk)** G. M. Barroso & Sobral (*Myrtaceae*). 2008. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACIAS, F. A.; GALLINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G. Plant bio communicators: Application of allelopathic studies. In: TEUS, J. C. (ed.). **2000 years of natural products: research past, present and future**. Lujendijk: Phytoconsult, 2000. p. 137-161.

MELO, S. C. C. O.; GIOTTO, A. C.; SILVA, J. G. P. Efeito alelopático de *Eugenia disenterica* Mart. ex DC. Berg. (*Myrtaceae*) na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. (*Asteraceae*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 2, p. 600-602, 2007.

MARQUES, A. M. et al. Seasonal variation in the chemical composition of the essential oil from *Eugenia uniflora* leaves. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 5, p. 1047-1049, 2010.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Relatório anual de biodiversidade**. Brasília, DF: MMA, 2024.

MOLISCH, H. **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere: Alelopatia**. Jena: Fischer Verlag, 1937.

MORAIS, L. A. S.; CASTANHA, R. F. Composição química do óleo essencial de duas amostras de carqueja (*Baccharis spp.*) coletadas em Paty do Alferes, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, p. 628-632, 2011.

MYRTACEAE. In: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora e funga do Brasil**. Rio do Janeiro: Jardim Botânico, [2024]. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB171>. Acesso em: 24 jan. 2025

OGUNWANDE, I. A.; OLUWADIPO, F.; ADEBAYO, A. C. Constituintes do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. sai da Nigéria. **Journal of Essential Oil Research**, [s. l.], v. 1, p. 73-75, 2005.

OLIVEIRA, A. L. et al. Chemical composition and seasonal variability of essential oils from *Eugenia uniflora*. **Química Nova**, v. 40, n. 5, p. 567-572, 2017.

OLIVEIRA, D. M.; CARDOSO, M. G. Óleos essenciais de espécies de *Eugenia*: aplicações em alimentos, agricultura e produtos farmacêuticos. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 72, p. 90-100, 2022.

OLIVEIRA, L. H. A. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* L. em diferentes tempos de extração. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 9., 2017, Caxias do Sul. **Anais [...]**. Caxias do Sul: UCS, 2017. Disponível em: 10.22533/at.ed.6219130095.

OLIVEIRA, M. C. et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Eugenia uniflora* – Uma revisão científica. **Revista de Biociências**, v. 18, n. 2, p. 78-89, 2021. Disponível em: https://www.unipar.br/documentos/562/Atividade_Antimicrobiana_da_Eugenia_Uniflora_-_Uma_revisao.pdf. Acesso em: 16 fev. 2025.

PATIL, B. S. et al. Compostos bioativos em frutas cítricas: seu papel na prevenção de doenças crônicas. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 49, n. 10, p. 827-839, 2009.

PAULA, V. P. **Atividades biológicas de óleos essenciais de espécies de Myrtaceae**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2019. Disponível em: https://sistemas.ifgoiano.edu.br/sgcursos/uploads/anexos_12/2019-06-17-01-29-36Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Vanessa%20Paula.pdf. Acesso em: 16 fev. 2025.

PAWLISZYN, J. **Solid Phase Microextraction: Theory and Practice**. 2. ed. New York: Springer, 2012.

- PERES, Lázaro E. P. Metabolismo Secundário. **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo**, 2024. Disponível em: <https://www2.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploadsprofessor/ce5449dfcf0e02f741a5af86c3c5ae9a.pdf>. Acesso em: 16 fev. 2025.
- Pino, J. A., et al. (2010). *Volatile compounds of essential oils: Chemical properties and methods of extraction*. In: *Essential Oils: Chemistry, Composition and Therapeutic Properties*.
- QADERI, M. M.; MARTEL, A. B.; STRUGNELL, C. A. Environmental Factors Regulate Plant Secondary Metabolites. **Plants**, Basel, v. 12, n. 3, p. 447, 2023.
- REICH, E.; SCHIBLI, A. *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. New York: Thieme, 2007. REYNERTSON, K. A. et al. Biodiversidade e produção de metabólitos secundários em Myrtaceae. **Revista de Etnofarmacologia**, [s. l.], v. 12, p. 345-352, 2008.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.
- RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. **Alelopatia**: aspectos básicos e aplicados. Londres: Chapman e Hall, 1992.
- RODRIGUES, C. E. et al. Avaliação do potencial alelopático de extratos de *Eugenia pyriformis* na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*). **Acta Botânica Brasilica**, Brasília, DF, v. 4, p. 686-691, 2018.
- SANTOS, R. F. et al. **Extração de óleos essenciais das folhas de *Eugenia uniflora* em diferentes ambientes e tratamentos de secagem**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
- SANTOS, S. C. et al. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Química Nova**, São Paulo, v. 9, p. 1192-1197, 2015.
- Santos, P. L. et al. (2014). Perfil químico e propriedades biológicas dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*. *Journal of Essential Oil Research*.
- Santos, J. R. et al. (2015). *Óleo essencial de Eugenia uniflora: propriedades terapêuticas e composição química*. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*. SARTORATTO, A. et al. Composição e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas aromáticas utilizadas no Brasil. *Revista Brasileira de Microbiologia*, São Paulo, v. 2, p. 275-280, 2004.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Fenólicos em alimentos e nutracêuticos**: fontes, aplicações e efeitos na saúde. Boca Raton: CRC Press, 1995.
- SILVA, C. F. et al. Métodos cromatográficos aplicados à análise de óleos essenciais. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 1021-1026, 2009.
- SILVA, E. M.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 115, n. 2, p. 388-394, 2009.

- SILVA, E. R. *et al.* Efeitos alelopáticos de óleos essenciais de *Eugenia uniflora* em plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 38, p. e020215123, 2020.
- SILVA, J. *et al.* Alelopatia e manejo sustentável: aplicações de extratos vegetais no controle de plantas daninhas. **Revista de Agroecologia**, v. 5, n. 2, p. 45-59, 2020.
- SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentos de química analítica**. 8. ed. São Paulo: Thomson, 2006.
- SOBRAL, M. *et al.* *Myrtaceae* nos neotrópicos: diversidade e distribuição. **Revista Botânica da Sociedade Linneana**, [s. l.], v. 175, n. 2, p. 243-260, 2015.
- SOUZA FILHO, A. P. S. *et al.* Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006.
- SOUZA, R. C.; LOPES, G. H.; SILVA, A. F. Fundamentos e aplicações da Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS). **Revista Brasileira de Análises Químicas**, v. 4, n. 1, p. 23-31, 2018.
- STAHL, E. *Thin Layer Chromatography: A Laboratory Handbook*. 2. ed. Berlin: Springer, 1969. TAIZ, L.; ZEIGER, E. (ed). *Plant physiology*. 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2. ed. Berlin: Springer, 1996. WILSON, P. G. *Myrtaceae*: um modelo de família para definir e explorar hotspots de biodiversidade. **Australian Journal of Botany**, [s. l.], p. 113-127, 2011.
- WYERSTÅHL, T. *et al.* Componentes do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. (*Myrtaceae*) do Brasil. **Flavour and Fragrance Journal**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 95-100, 1988.
- ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaves from the Brazilian Amazon. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 14, n. 4, p. 245-247, 1999.

ANEXO A – LEI Nº 9.610, DE 19 DE FEVEREIRO DE 1998



**Presidência da República
Casa Civil
Subchefia para Assuntos Jurídicos**

LEI Nº 9.610, DE 19 DE FEVEREIRO DE 1998¹.

Altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais e dá outras providências.

O PRESIDENTE DA REPÚBLICA Faço saber que o Congresso Nacional decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

Título I - Disposições Preliminares

Art. 1º Esta Lei regula os direitos autorais, entendendo-se sob esta denominação os direitos de autor e os que lhes são conexos.

Art. 2º Os estrangeiros domiciliados no exterior gozarão da proteção assegurada nos acordos, convenções e tratados em vigor no Brasil.

Parágrafo único. Aplica-se o disposto nesta Lei aos nacionais ou pessoas domiciliadas em país que assegure aos brasileiros ou pessoas domiciliadas no Brasil a reciprocidade na proteção aos direitos autorais ou equivalentes.

Art. 3º Os direitos autorais reputam-se, para os efeitos legais, bens móveis.

Art. 4º Interpretam-se restritivamente os negócios jurídicos sobre os direitos autorais.

Art. 5º Para os efeitos desta Lei, considera-se:

I - publicação - o oferecimento de obra literária, artística ou científica ao conhecimento do público, com o consentimento do autor, ou de qualquer outro titular de direito de autor, por qualquer forma ou processo;

II - transmissão ou emissão - a difusão de sons ou de sons e imagens, por meio de ondas radioelétricas; sinais de satélite; fio, cabo ou outro condutor; meios óticos ou qualquer outro processo eletromagnético;

III - retransmissão - a emissão simultânea da transmissão de uma empresa por outra;

IV - distribuição - a colocação à disposição do público do original ou cópia de obras literárias, artísticas ou científicas, interpretações ou execuções fixadas e fonogramas, mediante a venda, locação ou qualquer outra forma de transferência de propriedade ou posse;

V - comunicação ao público - ato mediante o qual a obra é colocada ao alcance do público, por qualquer meio ou procedimento e que não consista na distribuição de exemplares;

VI - reprodução - a cópia de um ou vários exemplares de uma obra literária, artística ou científica ou de um fonograma, de qualquer forma tangível, incluindo qualquer armazenamento permanente ou temporário por meios eletrônicos ou qualquer outro meio de fixação que venha a ser desenvolvido;

VII - contrafação - a reprodução não autorizada;

VIII - obra:

a) em co-autoria - quando é criada em comum, por dois ou mais autores;

b) anônima - quando não se indica o nome do autor, por sua vontade ou por ser desconhecido;

c) pseudônima - quando o autor se oculta sob nome suposto;

d) inédita - a que não haja sido objeto de publicação;

e) póstuma - a que se publique após a morte do autor;

f) originária - a criação primígena;

g) derivada - a que, constituindo criação intelectual nova, resulta da transformação de obra originária;

h) coletiva - a criada por iniciativa, organização e responsabilidade de uma pessoa física ou jurídica, que a publica sob seu nome ou marca e que é constituída pela participação de diferentes autores, cujas contribuições se fundem numa criação autônoma;

i) audiovisual - a que resulta da fixação de imagens com ou sem som, que tenha a finalidade de criar, por meio de sua reprodução, a impressão de movimento, independentemente dos processos de sua captação, do suporte usado inicial ou posteriormente para fixá-lo, bem como dos meios utilizados para sua veiculação;

IX - fonograma - toda fixação de sons de uma execução ou interpretação ou de outros sons, ou de uma representação de sons que não seja uma fixação incluída em uma obra audiovisual;

X - editor - a pessoa física ou jurídica à qual se atribui o direito exclusivo de reprodução da obra e o dever de divulgá-la, nos limites previstos no contrato de edição;

XI - produtor - a pessoa física ou jurídica que toma a iniciativa e tem a responsabilidade econômica da primeira fixação do fonograma ou da obra audiovisual, qualquer que seja a natureza do suporte utilizado;

XII - radiodifusão - a transmissão sem fio, inclusive por satélites, de sons ou imagens e sons ou das representações desses, para recepção ao público e a transmissão de sinais codificados, quando os meios de decodificação sejam oferecidos ao público pelo organismo de radiodifusão ou com seu consentimento;

XIII - artistas intérpretes ou executantes - todos os atores, cantores, músicos, bailarinos ou outras pessoas que representem um papel, cantem, recitem, declamem, interpretem ou executem em qualquer forma obras literárias ou artísticas ou expressões do folclore.

Art. 6º Não serão de domínio da União, dos Estados, do Distrito Federal ou dos Municípios as obras por eles simplesmente subvencionadas.

¹ Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19610.htm.