

Caracterização química de populações de *Schinus molle* L. do Rio Grande do Sul

Ana Cristina Atti dos Santos¹, Marcelo Rossato², Fabiana Agostini³, Máira Lermen de Almeida³, Gabriel Fernandes Pauletti⁴, Luciana Atti Serafini¹, Patrick Moyna⁵ e Eduardo Dellacassa⁶

Introdução

Amplamente distribuída no Rio Grande do Sul, *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) também conhecida como anacauita ou aroeira-mansa é uma espécie heliófita e com características xerofíticas, usualmente empregada em paisagismo ou arborização das ruas. É originária do Peru e se encontra como nativa no Brasil, Uruguai, Argentina e outros países da região Andina [1].

Suas folhas e frutos contêm óleos essenciais picantes que são bastante utilizados na medicina popular, sendo conhecida na Costa Rica como “chile” ou “pimenta da Califórnia” [2]. Este óleo apresenta propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antiinflamatórias, antiespasmódicas, antipiréticas e cicatrizantes [3].

A composição química do óleo essencial consiste principalmente de hidrocarbonetos monoterpênicos, alguns sesquiterpenos e fenóis [4]. No entanto, a composição química de plantas de mesma espécie irá depender de diversos fatores, tais como estado fenológico da planta, fatores geográficos (localização), ecológicos (habitat), variabilidade genética (expressa através dos quimiotipos), processo de extração empregado, entre outros [5]. A definição de parâmetros visando a exploração de uma espécie vegetal é ponto de partida para a institucionalização de um projeto de manejo sustentado visando à extração do óleo essencial.

Considerando estes fatores, o presente trabalho teve por objetivo identificar a variabilidade química da espécie, comparando a composição química do óleo essencial extraído de material coletado em seu habitat natural àquele extraído de partes vegetais provenientes de sementes da coleta dos acessos.

Material e métodos

A. Coleta e manutenção dos acessos

Em março de 2004, pontos de coleta foram georreferenciados em GPS, segundo as regiões agroecológicas do Estado. Foram coletados galhos inteiros de árvores adultas de *Schinus molle*, contendo ramos, folhas e frutos. No laboratório foram preparadas as exsiccatas (Tabela 1), posteriormente encaminhadas ao Herbário. As sementes foram escarificadas para a

produção de mudas e realização de testes de germinação.

As sementes foram semeadas em caixas Gerbox e mantidas em BOD a 25°C com fotoperíodo de 12 horas de luz até germinação. Após o estabelecimento vegetativo (entre 3 a 5 folhas), as mudas foram transplantadas para recipientes plásticos com substrato apropriado, sendo mantidas em casa de vegetação.

As folhas das plantas nativas e das mudas foram desidratadas em secador de ervas durante quatro dias a 36°C para as extrações do óleo essencial.

B. Extração do óleo essencial

Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparelho Clevenger, durante uma hora. Após a extração, o volume de óleo foi lido no próprio aparelho, e o teor calculado na razão volume de óleo/peso do vegetal. Foram extraídos os óleos essenciais do material coletado a campo (P) e do material submetido aos ensaios de germinação (S1).

C. Análises cromatográficas

A composição química das amostras foi obtida por análises quantitativas em cromatógrafo HP 6890 e coluna capilar HP-Innowax. O programa de temperatura da coluna foi: 40 °C (8 min) a 180 °C à 3 °C/min, 180-230 °C à 20 °C/min, 230 °C (20 min). A temperatura do injetor foi de 250 °C, a temperatura do detector foi de 250 °C, o gás de arraste utilizado foi o H₂ na pressão de 34 kPa e a razão de “split” foi de 1:50. O volume injetado de amostra foi 1 µL diluído em hexano (1:10). Análises qualitativas foram realizadas em cromatógrafo gasoso acoplado a detector seletivo de massas GC6890/MSD5973 HP, por comparação dos espectros de massa dos compostos aos espectros da biblioteca Wiley 275. A identificação dos componentes foi realizada através dos índices de retenção com programação linear de temperatura em coluna polar e apolar e comparação com dados descritos na literatura [6].

D. Análise estatística

Foram considerados os compostos que representaram mais que 10% do teor total dos compostos químicos, em pelo menos uma amostra. A análise estatística utilizada

1. Professora do Departamento de Física e Química e Pesquisadora do Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Caxias do Sul, RS, CEP 95070-560. E-mail: acsantos@ucs.br

2. Professor do Departamento de Ciências Biomédicas e Pesquisador do Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul.

3. Alunos de Pós-Graduação e Graduação Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul.

4. Professor do Departamento de Ciências Biológicas e Pesquisador do Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul.

5. Professor da Cátedra de Ciencia y Tecnologia de Alimentos, Facultad de Química, Universidad de la República. CP 11800, Montevideo, Uruguay.

6. Professor da Cátedra de Farmacognosia Y Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la República

Apoio financeiro: Universidade de Caxias do Sul e Programa CYTED – Projeto IV.20.

para comparação do teor de compostos químicos do óleo essencial foi o teste F. Para análise de componentes principais (PCA) foi utilizada a matriz de produção de teor de óleo, para classificação hierárquica de similaridade empregando-se o coeficiente de Pearson.

Resultados e Discussão

Foram identificados 28 compostos químicos nos óleos essenciais de *Schinus molle*, sendo a maioria constituída de mono e sesquiterpenos não oxigenados. α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, β -cariofileno, biciclogermacreno, δ -cadineno, espatulenol e α -cadinol foram encontrados como componentes majoritários, representados por teores superiores a 10% nas amostras (Tabela 1).

A análise dos dados químicos dos oito acessos naturais de *Schinus molle* do Rio Grande do Sul (P) permite agrupar quimicamente as amostras em dois grupos: Grupo 1 - Alto pineno, contendo elevado teor do composto α -pineno (acessos 147, 319, 306, 317, 208 e 324) e Grupo 2 - Baixo pineno, com representação dos acessos 310 e 265 (Figura 1).

Tratamento estatístico semelhante, para amostras de óleos essenciais extraídas de material propagado em estufa (S1), submetidos às mesmas condições ambientais, permite agrupar os acessos em novos grupos: Grupo 1 - Alto pineno, representado pelos acessos 319, 324, 208, 147, 306 e 310, Grupo 2 - Mirceno, representado pelo acesso 265 e Grupo 3 - Baixo pineno, representado pelo acesso 317 (Figura 2).

A comparação das amostras de óleos essenciais extraídos a partir de coletas no ambiente natural (P) àquelas obtidas após germinação de sementes em casa de vegetação (S1), utilizando Teste F, permite concluir que existem variações significativas entre a produção de alfa-pineno e sabineno, limoneno, beta-cariofileno, biciclogermacreno, espatulenol e alfa-cadinol (Tabela 2).

Diversas hipóteses podem ser utilizadas para explicar as diferenças/semelhanças químicas encontradas entre amostras P e S1. A primeira possibilidade relaciona-se à fecundação cruzada da espécie, que permite a variação genética, e conseqüentemente a variação química demonstrada na S1, já que não sabemos quem são os possíveis parentais, por ser a fecundação ao acaso, polinização entomófila ou anemófila [7].

Os fatores ambientais, representados pela altitude, temperatura, luminosidade, solo, interações animais-plantas e plantas-plantas, além dos fatores antrópicos, podem exercer variações nas rotas metabólicas das plantas, o que resultaria num ecotipo e não num quimiotipo [7]. Por exemplo, o acesso 319 produz teores de α -pineno estatisticamente semelhantes entre P e S1,

não apresentando alterações genéticas significativas e podendo ser considerando um representante do Grupo Alto Pineno. Por outro lado, o acesso 265 teve um incremento no teor de mirceno em três vezes na S1; se não houve incremento gênico na produção deste composto, podemos inferir que há uma influência ambiental altamente vantajosa na produção deste composto. Por último podemos comentar o comportamento bastante variável do acesso 147. No ambiente natural (P) apresenta alto teor de α -pineno e na S1 apresenta limoneno, podendo ser classificado como ecotipo: produz pineno na região da Campanha e pineno/limoneno na região da Serra.

Além destes fatores, a formação de possíveis híbridos intraespecíficos [8] pode auxiliar a explicar o comportamento químico do acesso 310, que em ambiente natural produz sabineno e limoneno e na S1 aumenta significativamente a produção de α e β -pineno.

Os resultados permitem concluir que grande parte das populações sofre modificações genéticas ou ambientais que influenciam no seu metabolismo químico. Apesar destas modificações, podemos classificar as populações em dois grupos: Alto pineno e Baixo pineno, independentemente do local de coleta.

Agradecimentos

Universidade de Caxias do Sul, Secretaria e Estado da Ciência e Tecnologia – RS e FAPERGS.

Referências

- [1] BACKES, P.; NARDINO, M. 2002. *Árvores, arbustos e algumas lianas nativas no Rio Grande do Sul*. São Leopoldo, Editora Unisinos. 202p.
- [2] LEÓN, J.; POVEDA, L.J. 2000. *Nombres comunes de las plantas em Costa Rica*. San José, Guayacán, 182p.
- [3] MARONGIU, B.; ALESSANDRA, P.S.P.; CASU, R.; PIERUCCI, P. 2004. Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L.. *Flavour and Fragrance Journal*, 19: 554-558.
- [4] MAFFEI, M.; CHIALVA, F. 1990. Essential oils from *Schinus molle* L. berries and leaves. *Flavour and Fragrance Journal*, 5: 49-52.
- [5] BANDONI, A. 2000. *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica*. Editorial de La Universidad Nacional de La Plata, Argentina. 417p.
- [6] ADAMS, R.P. 2001. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry*, Allured Publishing Corporation, Illinois, 2001, 456p.
- [7] MELLO, O. M. AND SILVA-FILHO M. C. 2002. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 14: 71-81.
- [8] SEDREZ, R. M. 1996. *Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para conservação e manejo de populações naturais em plantas*. In: Palestra do 42º Simpósio Brasileiro de Genética, Caxambu, Minas Gerais.

Tabela 1. Dados de coleta e composição química percentual majoritária dos óleos essenciais de *S. molle* coletados em ambiente natural (P) e cultivados em casa de vegetação (S1)

Local	Acesso	HUCS	Determinador	Amostras	α -pineno	β -pineno	sabineno	mirceno	limoneno	biciclogermacreno	α -cadinol
Caçapava do Sul	147	20349	Stephen & Smith	P	32,89	14,37	1,84	0,34	0,77	3,54	13,27
				S1	23,98	26,67	3,00	9,82	24,43	4,14	<0,01
Caxias do Sul	208	22587	Stephen & Smith	P	54,47	7,62	0,48	6,42	13,03	0,88	<0,01
				S1	49,68	10,58	0,73	0,95	16,94	6,54	<0,01
Erechim	265	24697	Stephen & Smith	P	1,86	2,55	13,65	18,50	14,84	14,69	0,21
				S1	2,96	3,73	11,04	54,47	16,39	4,36	<0,01
Alto Alegre	306	26711	Stephen & Smith	P	24,15	31,13	2,76	0,87	9,21	9,46	0,87
				S1	29,37	34,41	13,44	2,36	10,21	3,34	<0,01
Don Pedrito	310	27185	M. Rossato	P	8,75	7,40	18,50	12,05	19,44	15,21	0,44
				S1	26,36	27,19	2,77	11,39	21,23	3,31	0,62
Santana doLivramento	317	27186	M. Rossato	P	28,48	9,92	1,32	1,15	9,41	4,00	11,56
				S1	12,00	5,99	17,30	8,68	2,61	22,52	7,10
Quaraí	319	27187	M. Rossato	P	35,73	21,27	2,26	3,01	1,13	8,87	4,09
				S1	27,91	20,76	1,75	4,48	6,09	14,15	7,71
São Borja	324	27188	M. Rossato	P	15,47	4,59	0,55	6,30	10,72	8,26	16,32
				S1	21,94	12,59	2,31	17,53	3,64	6,07	10,94
I.R. coluna polar					1014	1071	1081	1143	1192		2171
I.R. coluna apolar					945	981	972	992	1033	1517	1568

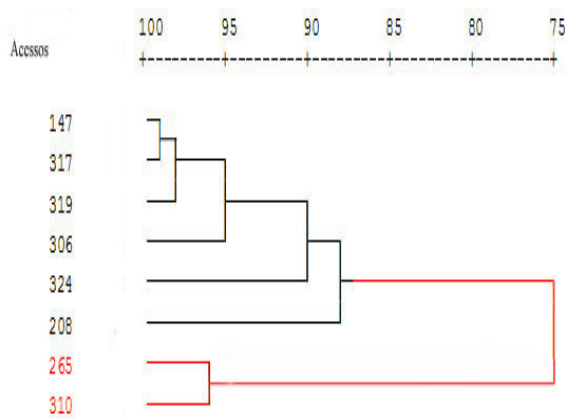


Figura 1. Dendrograma obtido através de Análise de Componentes Principais (ACP) de compostos químicos de oito acessos de populações de *Schinus molle* do Rio Grande do Sul utilizando-se o Coeficiente de Pearson.

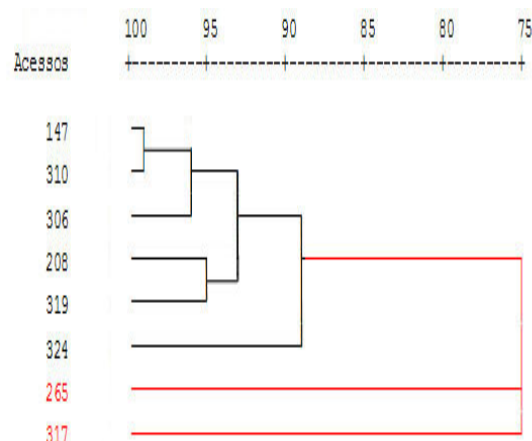


Figura 2. Dendrograma obtido através de Análise de Componentes Principais (ACP) de oito acessos de populações de *Schinus molle* do Rio Grande do Sul cultivados em casa de vegetação (S1) utilizando-se o Coeficiente de Pearson.

Tabela 2. Comparação das médias dos acessos das amostras de óleos essenciais extraídos em ambiente natural (P) e após germinação em casa de vegetação (S1), utilizando o Teste F.

composto	n	Sig.	Médias
α -pineno	15	,000	24,75 ^a
β -pineno	15	,000	15,04 ^{ab}
sabineno	15	,002	5,85 ^b
mirceno	15	,009	9,90 ^{ab}
limoneno	15	,000	11,25 ^b
β -cariofileno	15	,000	3,20 ^b
biciclogermacreno	15	,000	8,08 ^b
espatulenol	15	,000	2,28 ^b
α -cadinol	15	,001	4,11 ^b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si com $\alpha < 0,5$