

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Tese

Caracterização morfo-anatômica e metabólica de espécies do gênero
***Cymbopogon*: uma contribuição para o melhoramento das espécies**

Daiane Prochnow

Pelotas, 2018

Daiane Prochnow

**Caracterização morfo-anatômica e metabólica de espécies do gênero
Cymbopogon: uma contribuição para o melhoramento das espécies**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências (Área do conhecimento: Fitomelhoramento).

Orientador: Luciano Carlos da Maia

Coorientador: Antônio Costa de Oliveira

Railson Schreinert dos Santos

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P963c Prochnow, Daiane

Caracterização morfo-anatômica e metabólica de espécies do gênero *cymbopogon*: uma contribuição para o melhoramento das espécies / Daiane Prochnow ; Luciano Carlos da Maia, orientador ; Antonio Costa de Oliveira, Railson Schreinert dos Santos, coorientadores. — Pelotas, 2018.

103 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Plantas medicinais. 2. Infusões. 3. Óleo essencial. 4. Citronela. 5. Cidreira. I. Maia, Luciano Carlos da, orient. II. Oliveira, Antonio Costa de, coorient. III. Santos, Railson Schreinert dos, coorient. IV. Título.

CDD : 633.88

Daiane Prochnow

Caracterização morfo-anatômica e metabólica de espécies do gênero *Cymbopogon*:
uma contribuição para o melhoramento das espécies

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciências,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel,
Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 16 de julho de 2018

Banca examinadora:

Prof. Dr. Luciano Carlos da Maia (Orientador)
Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr^a. Denise Schmidt
Doutora em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Maria.

Prof. Dr^a. Camila Pegoraro
Doutora em Agronomia, pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Carlos Rogério Mauch
Doutor em Agronomia, pela Universidad Politécnica de Valencia.

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi
Doutor em Biologie Moléculaire Végétale pela Ecole Nationale Supérieure
Agronomique de Toulouse.

*Aos meus pais,
Arno e Marli , exemplos de
vida, que sempre me
apoiaram e acreditaram
em minhas vitórias e ideais.*

DEDICO...

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida e por estar ao meu lado em todos os momentos.

A Universidade Federal de Pelotas (UFPel), ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e ao Centro de genômica e Fitomelhoramento pela oportunidade de cursar o Doutorado, propiciando-me o acesso à Pós-Graduação pública e de qualidade. Em especial à CAPES pela bolsa concedida.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPel e a Universidade Federal de Santa Maria pela ajuda na realização das análises.

Ao Prof. Dr. Luciano Carlos da Maia, pela confiança e orientação, necessário para condução deste trabalho. Ao Prof. Dr. Antonio Costa de Oliveira, Prof. Dr^a. Camila Pegoraro e Dr. Railson Schreinert dos Santos pelos ensinamentos.

A Prof. Dr^a. Denise Schmidt que mesmo longe continua me ajudando e aconselhando.

A Professora Élen Nunes Garcia pela ajuda na identificação das espécies.

Aos meus pais, Arno e Marli, pelo amor, compreensão e dedicação para que pudesse realizar meu sonho, permanecendo sempre ao meu lado, me dando todo apoio necessário para que pudesse chegar até aqui.

Aos meus irmãos, Ederson e Glaucia e aos meus sobrinhos Ana Lia e Fábio Henrique por tornarem meus dias mais leves.

Ao meu namorado Juliano Cesar, pelo carinho, amor, incentivo e apoio incondicional durante essa caminhada.

Aos meus amigos e colegas, Kezia Guidorizi, Lilian M. Barros, Bruna Possebom, Bárbara Giacomini e Cássia Stafen, pela ajuda, companheirismo e amizade, fundamentais para a execução da pesquisa.

Aos amigos que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.

Enfim, a todos aqueles não citados, que contribuíram diretamente e indiretamente para que eu vencesse mais esta importante etapa de minha vida.

A todos vocês, **MUITO OBRIGADO.**

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê.”*
(Arthur Schopenhauer)

Resumo

PROCHNOW, Daiane. **Caracterização morfo-anatômica e metabólica de espécies do gênero *Cymbopogon*: uma contribuição para o melhoramento das espécies**. 2018. 103f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

As plantas medicinais sempre foram utilizadas pelos seres humanos como alternativa no combate a enfermidades. Para evitar a utilização das espécies de forma errônea, é necessário realizar a correta identificação das plantas de interesse, bem como, conhecer detalhes morfológicos, anatômicos e até mesmo metabólicos, possibilitando a diferenciação das espécies de uma forma correta e segura. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar de forma botânica, morfológica, anatômica e química, acessos de plantas do gênero *Cymbopogon*, estabelecendo características específicas de cada espécie, para futura utilização em um programa de melhoramento genético e para produtores de plantas medicinais. O cultivo foi realizado em canteiros localizados no município do Capão do Leão - RS, no campus da Universidade Federal de Pelotas, nos anos de 2016/2017, sendo utilizadas as espécies *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon distans*, *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon winterianus*. Este estudo descreveu algumas características morfológicas (altura de planta, comprimento e largura de folha e comprimento do colmo), anatômicas (índice e tamanho de estômatos, cortes transversais da nervura principal) e o perfil químico das quatro espécies (compostos voláteis e não voláteis presentes nas infusões e no óleo essencial). As espécies estudadas apresentam diversas características estruturais em comum, porém tamanho de folha (largura e comprimento), arranjo e tamanho da nervura principal, tamanho e localização dos estômatos são de grande importância para a diferenciação. Com base nas análises realizadas neste estudo, conclui-se que em geral a espécie *C. distans* apresentou maior número de características distintas, diferindo nas variáveis de altura de planta, tamanho de folha, número e localização dos estômatos, arranjo dos vasos condutores e no perfil químico do óleo essencial, destacando-se por apresentar altos teores de citral. As espécies *C. citratus*, *C. flexuosus* e *C. winterianus* apresentaram diversas características morfológicas e anatômicas em comum, sendo a análise do metaboloma uma ferramenta eficaz para discriminação das espécies. Na análise das infusões, *C. flexuosus* apresentou perfil químico diferenciado, com pequeno número de compostos identificados. Quanto ao óleo essencial, foi possível realizar a identificação do citral como o componente principal de *C. citratus*, *C. distans* e *C. flexuosus*. O citronelal, citronelol, geraniol e elemol são predominantes em *C. winterianus*. A espécie *C. citratus* se destaca pela alta concentração de mirceno, o que a distingue de *C. flexuosus*, as quais são conhecidas pelo mesmo nome popular.

Palavras chave: Plantas medicinais; infusões; óleo essencial; citronela; cidreira

Abstract

PROCHNOW, Daiane. **Morpho-anatomical and metabolic characterization of species of the genus *Cymbopogon*: a contribution to the improvement of the species.** 2018. 103p. Thesis (PhD in Agronomy) - Postgraduate Program in Agronomy, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Medicinal plants have always been used by humans as an alternative in the fight against diseases. To avoid the use of species wrongly, it is necessary to perform the correct identification of plants of interest, as well as meet morphological, anatomical and even metabolic details, enabling the differentiation of species in a correct and safe manner. The objective of this work was to identify botanical, morphological, anatomical and chemistry traits of plants of the genus *Cymbopogon*, establishing specific traits of each species, for future use in a breeding program and for plant growers medicinal products. The growth was conducted at a plantbed located in the Capão do Leão – RS city on the campus of the Universidade Federal de Pelotas, in the years of 2016/2017, being used *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon distans*, *Cymbopogon flexuosus* and *Cymbopogon winterianus* species. This study described some morphological traits (plant height, leaf length and leaf width and stem length), anatomical traits (stoma index and size, transversal cuts of the main vein) and the chemical profile of the four species (volatile and non-volatile compounds present in infusions and essential oil). The studied species show several structural traits in common, however, leaf size (width and length), arrangement and size of the midrib, size and location of the stomata, are of great importance for the differentiation. Based on the analyzes carried out in this study, it was concluded that, in general, the *C. distans* species presented a greater number of distinct traits, differing in plant height, leaf size, number and location of stomata, arrangement of conducting vessels and chemical profile of the essential oil, being distinguished by its high levels of citral. *C. citratus*, *C. flexuosus* and *C. winterianus* species presented several morphological and anatomical traits in common, making the metabolome analysis an effective tool for species discrimination. In the analysis of the infusions, *C. flexuosus* showed a differentiated chemical profile, with a small number of compounds identified. As for the essential oil, it was possible to identify the citral as the main component of *C. citratus*, *C. distans* and *C. flexuosus*. Citronellal, citronellol, geraniol and elemol are predominant in *C. winterianus*. The *C. citratus* species is distinguished by the high concentration of myrcene, which distinguishes it from *C. flexuosus*, which are known by the same popular name.

Keywords: Medicinal plants; infusions; essential oil; citronella; lemon grass

Lista de figuras

2. Revisão bibliográfica

Figura 1 - Cultivo de espécies do gênero *Cymbopogon* utilizadas no estudo. (A) *C. citratus*; (B) *C. distans*; (C) *C. flexuosus*; (D) *C. winterianus*. Barras: 30 cm. .21

3. Capítulo 1: Caracterização morfo-anatômica de quatro espécies do gênero *Cymbopogon* (Poaceae)

Figura 1 - Espécies do gênero *Cymbopogon* utilizadas no estudo. (A) *C. citratus*; (B) *C. distans*; (C) *C. flexuosus*; (D) *C. winterianus*. Barras: 30 cm.33

Figura 2 – (A) Variáveis morfológicas (comprimento de folha, comprimento do colmo, altura de planta e largura de folha, e (B) índice estomático da face adaxial e abaxial de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*.....35

Figura 3 - Variáveis morfológicas características das quatro espécies do gênero *Cymbopogon*. (A) *C. citratus*; (B) *C. distans*; (C) *C. flexuosus*; (D) *C. winterianus*.37

Figura 4 - Variáveis anatômicas de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*: **(A)** Espessura da nervura principal. Largura dos vasos condutores, comprimento dos vasos condutores; **(B)** Espessura da epiderme abaxial, espessura da cutícula adaxial e espessura da cutícula abaxial.38

Figura 5 - Distribuição dos estômatos na face adaxial e abaxial das folhas de quatro espécies de *Cymbopogon*: (A e B) *C. citratus*; (C e D) *C. distans*; (E e F) *C. flexuosus*; (G e H) *C. winterianus*. St – estômatos; Tr – tricomas. Barras: 50 µm.39

Figura 6 - Cortes transversais da nervura principal e limbo foliar de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*: (A e B) *C. citratus*; (C e D) *C. distans*; (E e F) *C. flexuosus*; (G e H) *C. winterianus*. **Bc**: células buliformes; **Be**: Extensão do feixe; **Eb**: epiderme abaxial; **Ed**: epiderme adaxial; **Fb**: bainha do feixe; **Fv**: feixe vascular; **Ph**: Floema; **Ps**: Bainha parenquimática; **Sc**: Calota esclerenquimática; **Sm**: Câmara subestomática; **St**: Estômato; **tr**: Tricoma grândular; **Xy**: Xilema. Barras: 50 µm.....40

Figura 7 - Dendrograma da análise de agrupamento com base nas características morfológicas e anatômicas de quatro espécies de *Cymbopogon*.....42

4. Capítulo 2 - Perfil químico de infusões de *Cymbopogon citratus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus* revela diferenças nas propriedades medicinais deste gênero de plantas

Figura 1 Perfil químico de *Cymbopogon* spp. (A). Análise de componentes principais de espécies de *Cymbopogon* baseada em seus constituintes. (B). Importância

da Variável em projeção (VIP), gráfico da análise discriminante de mínimos quadrados parciais iniciais (PLS-DA) derivada de dados LCMS. (C). Grupamento hierárquico de três espécies de *Cymbopogon*, com base em dados de metabolômica não segmentados (35 compostos).....53

Figura 2 - Identificação e concentrações de compostos encontrados em plantas do gênero *Cymbopogon*. (A). Cromatogramas de íons típicos obtidos por HPLC a partir de infusões de *Cymbopogon*. Os dados de cada espécie podem ser visualizados separadamente no Apêndice D. (B). Intensidade dos principais compostos encontrados em três espécies de *Cymbopogon*.55

Figura 3 - Rotas metabólicas envolvidas na síntese e degradação dos principais compostos do metabolismo especializado das espécies de *Cymbopogon* em estudo. Os genes mais relevantes que devem estar envolvidos nas diferenças entre genótipos são destacados em vermelho.56

5. Capítulo 3: Perfil químico do óleo essencial de *Cymbopogon*: diferenças entre espécies e identificação de compostos voláteis alvo para engenharia metabólica

Figura 1 Identificação e concentração dos compostos encontrados em plantas do gênero *Cymbopogon*. (A) Conteúdo de óleo essencial obtido de diferentes plantas do gênero *Cymbopogon*; (B) Cromatogramas de íons típicos obtidos por HPLC a partir de óleo de *Cymbopogon*. (C) Intensidade dos compostos principais encontrados nas quatro espécies de *Cymbopogon*.....66

Figura 2 Perfil químico obtido do óleo de *Cymbopogon* spp. (A) Análise de componente principal de espécies de *Cymbopogon* com base em seus constituintes. (B) Proporção de importância variável em projeção (VIP) da análise discriminante de mínimos quadrados iniciais (PLS-DA) derivada de dados LCMS. (C) Agrupamento hierárquico de quatro espécies de *Cymbopogon*, com base em dados de metabolômica não-direcionada (25 compostos).68

Figura 3 Rota de biossíntese dos terpenos. Rotas metabólicas de síntese e degradação dos principais constituintes do óleo essencial das quatro espécies de *Cymbopogon* utilizadas neste estudo. Os números de enzimas possuem seus nomes correspondentes disponíveis no Apêndice E. Os compostos de maior importância nas espécies em estudo são destacados em negrito.....70

Lista de tabelas

2. Revisão bibliográfica

- Tabela 1 - Número de cromossomos, teor de óleo essencial e componentes majoritários das quatro espécies do gênero *Cymbopogon*20
- Tabela 2 - Países de cultivo, nome comum e uso medicinal popular das quatro espécies do gênero *Cymbopogon*.....24

3. Capítulo 1: Caracterização morfo-anatômica de quatro espécies do gênero *Cymbopogon* (Poaceae)

- Tabela 1 Comprimento e largura dos estômatos da face adaxial e abaxial de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*.....37

4. Capítulo 2 - Perfil químico de infusões de *Cymbopogon citratus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus* revela diferenças nas propriedades medicinais deste gênero de plantas

- Tabela 1 Compostos encontrados em infusões de *C. citratus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus*.51

5. Capítulo 3: Perfil químico do óleo essencial de *Cymbopogon*: diferenças entre espécies e identificação de compostos voláteis alvo para engenharia metabólica

- Tabela 1- Compostos identificados em cada espécie de *Cymbopogon*.....67

Sumário

1. Introdução e justificativa	14
2. Revisão bibliográfica	16
2.1. Melhoramento genético	16
2.2. Importância das plantas medicinais	17
2.3. Comércio e produção de plantas medicinais	19
2.4. Gênero <i>Cymbopogon</i>	19
2.6. Identificação e caracterização taxonômica	26
2.7. Metabolismo secundário	27
3. Capítulo 1: Caracterização morfo-anatômica de quatro espécies do gênero <i>Cymbopogon</i> (Poaceae)	29
3.1. Introdução	29
3.2. Material e métodos	31
3.2.1. Material vegetal e condições de cultivo	31
3.2.2. Variáveis morfológicas, caracterização anatômica e impressão de epiderme	32
3.2.3. Delineamento experimental e análise estatística	34
3.3. Resultados	34
3.3.1. Caracteres morfológicos	35
3.3.2. Variáveis anatômicas	36
3.4. Discussão	42
3.5. Conclusão	46
4. Capítulo 2 - Perfil químico de infusões de <i>Cymbopogon citratus</i>, <i>C. winterianus</i> e <i>C. flexuosus</i> revela diferenças nas propriedades medicinais deste gênero de plantas	47
4.1. Introdução	47
4.2. Material e Métodos	48
4.2.1. Material Vegetal	48
4.2.2. Preparo das amostras	48
4.2.3. HPLC-UV-Q-ToF-MS – Condições de processamento	49
4.2.4. HPLC-Q-ToF-MS – Análise dos Dados	50
4.2.5. Análise da via metabólica	50
4.3. Resultados	50
4.3.1. Perfil químico das infusões de <i>Cymbopogon</i>	50
4.3.2. Compostos desconhecidos	54
4.3.3. Vias metabólicas	55
4.5. Conclusão	59

5. Capítulo 3: Perfil químico do óleo essencial de Cymbopogon: diferenças entre espécies e identificação de compostos voláteis alvo para engenharia metabólica.....	60
5.1. Introdução.....	60
5.2. Material e métodos.....	62
5.2.1. Material vegetal.....	62
5.2.2. Extração do óleo essencial.....	63
5.2.3. Análise cromatográfica.....	63
5.2.4. Análise das vias metabólicas.....	64
5.2.5. Análise estatística.....	64
5.3. Resultados.....	64
5.3.1. Teor de óleo essencial.....	64
5.3.2. Perfil químico do óleo essencial.....	65
5.3.3. Compostos desconhecidos.....	69
5.3.4. Vias metabólicas.....	69
5.4. Discussão.....	69
5.5. Conclusão.....	75
6. Considerações finais.....	76
Referências.....	77
Apêndices.....	93
Anexos.....	99

1. Introdução e justificativa

O cultivo de plantas medicinais e aromáticas como alternativa financeira para a agricultura familiar tem-se mostrado uma forma de complemento na geração de renda com a comercialização de biomassa para chás, fitoterápicos e óleos essenciais, tanto no comércio interno, como externo, além de absorver a mão-de-obra familiar rural e garantir uma boa remuneração.

Um dos objetivos mais importantes na produção de plantas medicinais e aromáticas é de obter altos rendimentos de material vegetal e elevados conteúdos de princípios ativos. Estes princípios ativos são produtos do metabolismo secundário, cujo mecanismo de regulação depende tanto de fatores genéticos inerentes a cada espécie como de sua capacidade de interagir com os estímulos externos que ocorrem no ambiente de cultivo.

Um empecilho encontrado pelos produtores é a desuniformidade das espécies utilizadas. Isto ocorre devido à escassez de cultivares melhoradas para o cultivo, sendo utilizadas plantas nativas ou exóticas que ainda são selvagens, nas quais ocorre grande heterogeneidade dos caracteres agrônômicos. Com base nisto, o desenvolvimento de cultivares melhoradas via melhoramento genético proporcionaria o aumento e a padronização da produção de princípio ativo e da produção de massa fresca, o que tornaria possível a ampliação dos ganhos por parte dos produtores e das empresas que processam os fármacos.

O melhoramento genético de plantas medicinais e aromáticas permite obter novos genótipos da espécie em estudo com aumento de massa seca e fresca e aumento do teor de princípios ativos em determinado órgão vegetal, de modo que estas características sejam mantidas nas gerações seguintes.

A variabilidade genética constitui-se como a fonte primária dos estudos genéticos e sem ela não seria possível ocorrer adaptações e evolução nas espécies, bem como melhoramento genético, pois, em padrão único não existe possibilidade de seleção. Um problema encontrado é a falta de identificação correta de muitas espécies, fazendo com que as mesmas sejam empregadas de forma equivocada, ocorrendo confusão quando utilizadas espécies do mesmo gênero.

Para evitar o emprego das espécies de forma equivocada, é necessário realizar a correta identificação das plantas de interesse, bem como, conhecer detalhes

morfológicos, anatômicos e até mesmo metabólicos, para poder diferenciar espécies de uma forma correta e segura.

O primeiro procedimento de um programa de melhoramento, que visa trabalhar com plantas com pouco estudo e que possuem espécies muito semelhantes, é a correta identificação. É necessário o estudo completo do seu desenvolvimento no ambiente de cultivo, florescimento, reprodução, dentre outros, para identificar qual a melhor forma de trabalhar e quais as medidas que devem ser tomadas para se obter sucesso no processo de melhoramento.

Com isso, torna-se necessários investimentos em pesquisas na área, propiciando a correta identificação e caracterização de espécies do gênero *Cymbopogon*. Para o melhoramento de plantas desse gênero busca-se maior variabilidade genética, além do estudo do seu comportamento frente às condições ambientais e de cultivo.

Com base no exposto acima, o presente trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar através de análises morfológicas, anatômicas e de metaboloma, acessos de plantas do gênero *Cymbopogon*, estabelecendo características específicas de cada espécie, para futura utilização em um programa de melhoramento genético e por produtores de plantas medicinais.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Melhoramento genético

O melhoramento de plantas é a arte e a ciência de mudar a estrutura genética das plantas para o benefício da humanidade (POEHLMAN, 1959). O melhoramento de plantas tem dado ênfase, na maioria das vezes, para o aumento da produtividade das culturas (ALLARD, 1999), através do aumento da frequência de alelos favoráveis numa população ou estabelecendo uma combinação genética favorável, identificando os indivíduos mais produtivos e de melhor qualidade. A elevação da taxa de frequência alélica através da seleção, depende dos seguintes fatores: variabilidade genética da população original, método de seleção, tamanho da população, técnica e precisão das avaliações, influência do ambiente e da interação entre genótipo e ambiente (CARVALHO et al., 2008).

O maior desafio do melhoramento genético de plantas medicinais é a geração de cultivares que tornem a produção nacional competitiva no mercado mundial e que nos aproxime de mercados prósperos, utilizando plantas produtivamente estáveis quanto a produção do princípio ativo. O melhoramento também deve ser atribuído como fonte para pesquisas e geração de genótipos para produção de substâncias que possam ser utilizadas como matéria-prima para a indústria farmacêutica e cosmética. O cultivo destes genótipos em grande escala possibilitará a redução do extrativismo em algumas espécies.

O principal objetivo do melhoramento de plantas medicinais é a produtividade expressa pelos caracteres quantitativos, que busca aumento no teor de princípios ativos e seus principais constituintes químicos, tais como: alcaloides, flavonoides, glicosídeos, mucilagens, óleos essenciais e taninos (EMÍLIO et al., 1996). Para isso, são necessárias três etapas essenciais para obtenção de genótipos superiores: presença de variabilidade genética, eficiência na seleção de genótipos mais promissores e ajuste das melhores constituições genéticas ao ambiente de cultivo (CARVALHO et al., 2008).

A variabilidade genética é de fundamental importância para o sucesso de um programa de melhoramento genético na busca e seleção de novas cultivares. Ela consiste no principal fator que possibilita as espécies se desenvolverem em uma ampla faixa de ambientes. É de fundamental importância o conhecimento dos

recursos genéticos disponíveis, da variabilidade genética das espécies a serem estudadas, bem como, o conhecimento do seu sistema reprodutivo. A variabilidade genética disponível é gerada através da recombinação, mutação e hibridação (CARVALHO et al., 2008; EMÍLIO et al., 1996).

2.2. Importância das plantas medicinais

Planta medicinal é toda planta que quando aplicada (toda ou em partes) sob determinada forma e por alguma via ao homem e aos animais, é capaz de provocar um efeito farmacológico, ou que sejam utilizadas como precursores de fármacos semi-sintéticos. Os materiais vegetais são usados em diversos países como remédios caseiros, medicamentos sem receita e matérias-primas para a indústria farmacêutica e representam uma proporção substancial do mercado global de medicamentos (WHO, 1998)

A biodiversidade tem papel importante no desenvolvimento e bem-estar da humanidade, estando diretamente ligada ao equilíbrio ambiental global. Uma pequena parte das espécies vegetais são avaliadas e poucos são os estudos adequados dos componentes presentes na natureza e dos seus benefícios, mas tem-se valorizado cada vez mais o uso potencial de diferentes espécies vegetais como matéria-prima e sua capacidade de gerar benefícios sociais e econômicos, explorando sua utilização na medicina e diversos setores industriais (FERRO; BONACELLI; ASSAD, 2006).

Existem cerca de 350 a 400 mil espécies de plantas registradas em todo mundo e muitas delas são utilizadas no tratamento de diferentes doenças (AZIZ et al., 2017). De acordo com a Organização Mundial de Saúde, cerca de 80% da população de países de terceiro mundo faz uso de medicamentos fitoterápicos no sistema de atendimento primário à saúde. Além disso, as plantas medicinais são de grande importância para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de drogas, podendo seus constituintes serem utilizados diretamente como agentes terapêuticos ou como matérias-primas para a síntese de compostos farmacologicamente ativos (AZIZ et al., 2018; BRASIL, 2016).

As plantas medicinais contribuem, diretamente ou indiretamente, com cerca de 25% da matéria-prima de todos os medicamentos modernos, principalmente por meio da aplicação de novas tecnologias aliadas ao conhecimento tradicional. Quando se trata de algumas classes específicas de produtos farmacêuticos, como medicamentos

antitumorais e antimicrobianos, essa proporção pode ultrapassar que 60% (GURIB-FAKIM, 2006; KAPLAN; MATHERS, 2011).

A grande busca de espécies vegetais para estudo faz crescer a necessidade de reforçar a importância da correta identificação botânica das mesmas. Tal afirmação é acentuada pela dificuldade encontrada com o uso da nomenclatura popular. Em alguns casos, uma mesma espécie recebe vários nomes populares, de acordo com a região em que é encontrada. Em outros casos, o mesmo nome pode ser utilizado para espécies que pertencem a famílias botânicas diferentes, com constituintes químicos, atividades biológicas e dados toxicológicos distintos ou até mesmo desconhecidos (VERDAM; SILVA, 2010).

Algumas plantas medicinais e aromáticas produzem metabólitos secundários que desempenham papel importante na medicina, indústria e agricultura. Dentre as espécies utilizadas, encontram-se as do gênero *Cymbopogon* sp., que são plantas com ampla utilização como repelentes, inseticidas, cosméticos, aromatizantes, calmantes e possuem atividade antifúngica, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória dentre outras (ADUKWU et al., 2016; COSTA et al., 2015, 2016a; EKPENYONG; AKPAN, 2017; GUIMARÃES et al., 2011; WANY et al., 2013; WOLFFENBÜTTEL, 2010).

No Brasil diversas políticas públicas relacionada ao uso de plantas medicinais vem sendo implantadas pelo Ministério da Saúde. Em 2006, foi publicado a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que tem como objetivo promover melhorias na qualidade de vida da população brasileira, através do acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, ao desenvolvimento de tecnologias e inovações, ao fortalecimento das cadeias produtivas e da indústria nacional, ao uso sustentável da biodiversidade brasileira e ao desenvolvimento do complexo produtivo da saúde (BRASIL, 2016). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) elaborou uma lista de plantas medicinais com eficiência comprovada, disponibilizando sua forma de uso e indicações. Nesta lista consta a espécie *Cymbopogon citratus*, onde é indicada para o tratamento de cólicas intestinais e uterinas e para quadros leves de ansiedade e insônia, como calmante suave (ANVISA, 2017; BRASIL, 2010).

2.3. Comércio e produção de plantas medicinais

A produção global de chá em 2016 foi de 5,9 milhões de toneladas, onde a China lidera com 40% da produção total, seguida pela Índia (21%), Quênia (8%), Sri Lanka (6%), Turquia (4%), Vietnã (4%) e Indonésia (2%) (FAOSTAT, 2018).

Outro segmento do comércio de plantas medicinais é a produção de óleos essenciais. O mercado mundial de óleo essencial movimentou mais de US\$ 6 bilhões em 2015, devido ao aumento do uso da aromaterapia, juntamente com a crescente demanda por fragrâncias e sabores para alimentos, bebidas e produtos de higiene pessoal. Os maiores produtores mundiais de óleo essencial são a Índia, China, Indonésia e Brasil. Além disso, espera-se que este mercado cresça ainda mais, principalmente em países em desenvolvimento, como China, Índia, Vietnã e Tailândia. (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; GRAND VIEW RESEARCH, 2016).

O capim limão (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson e *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) possui produção anual de óleo essencial de cerca de 300 toneladas, sendo cultivado em países da América do Sul e Central (Brasil, Argentina, Ilhas do Caribe, Guatemala, Honduras e Haiti) e Ásia (Índia, China, Sri Lanka, Java, Vietnã, Malásia, Bangladesh e Mianmar) (RAO, 2013; WANY et al., 2013). A produção anual estimada de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) é de cerca de 2 mil toneladas, sendo cultivada principalmente na Indonésia, Guatemala, Honduras, China, Índia, Haiti, Vietnã e Sri Lanka. Juntos, o óleo essencial de citronela e capim-limão estão entre os mais produzidos no mundo, juntamente com o óleo de laranja, hortelã-pimenta e eucalipto (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

2.4. Gênero *Cymbopogon*

O nome *Cymbopogon* foi introduzido por Sprengel em 1815, com a transferência de quatro espécies do gênero *Andropogon*, sendo elas: *Cymbopogon elegans* Spreng. (*Andropogon cymbaria* L.), *Cymbopogon glandulosa* Spreng. (*Aandropogon prostata* (Willd.) L.), *Cymbopogon humboldtii* Spreng. (*Andropogon bracteatus* Humb. & Bonpl.) e *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (*Andropogon schoenanthus* L.). Atualmente, somente *C. schoenanthus* continua pertencendo ao gênero *Cymbopogon*. O gênero *Cymbopogon* pertence à tribo Andropogoneae, subfamília Panicoideae e família Poaceae. A maioria das espécies de *Cymbopogon*

pode ser claramente distinguida dos gêneros relacionados na tribo por serem aromáticas (AKHILA, 2010a; SOENARKO, 1977).

Estudos evidenciaram que o número básico de cromossomos do gênero *Cymbopogon* é de $x = 10$ (Tabela 1). Estas informações podem auxiliar na definição do posicionamento taxonômico e evolutivo das espécies, além de ajudar no melhoramento genético, através da estimativa da afinidade genética para a troca de alelos entre as espécies. A espécie *C. citratus* é tetraploide, já nas espécies *C. distans*, *C. flexuosus* e *C. winterianus* foram encontrados indivíduos diplóides e tetraplóides (GUPTA, 1965; SOENARKO, 1977; TECHIO; DAVIDE, 2007).

Tabela 1 - Número de cromossomos, teor de óleo essencial e componentes majoritários das quatro espécies do gênero *Cymbopogon* utilizadas no estudo.

Espécies	Cromossomos $x=10$ ^{1,2}	Teor (%) ^{5, 9, 10, 11}	Componentes majoritários
<i>C. citratus</i>	2n=40	0,4 a 0,7	β -Citral (10-50%), α -Citral (20-50%), mirceno (9-27%) ^{3, 4, 6}
<i>C. distans</i>	2n= 20, 40	0,3 a 0,4	β -Citral (15-20%), α -Citral (20-30%), acetato de geranila (10-23%) ^{3, 5}
<i>C. flexuosus</i>	2n= 20, 40	0,3 a 0,9	β -Citral (29-50%), α -Citral (30-45%) ^{3, 4}
<i>C. winterianus</i>	2n=20, 40	0,8	citronellal (26-45%), citronellol (4-15%), geraniol (16-84%) e elemol (2-10%) ^{3, 4, 6, 7, 8, 9}

^{*1}(SOENARKO, 1977); ²(SHOULIANG; PHILLIPS, 2006); ³(AKHILA, 2010b); ⁴(AVOSEH et al., 2015); ⁵(CHAUHAN et al., 2016); ⁶(MOHAMED HANAA et al., 2012); ⁷(KAKARAPARTHI et al., 2014); ⁸(SIMIC et al., 2008); ⁹(SINGH; KUMAR, 2017); ¹⁰(D'AVILA et al., 2016); ¹¹(RANA; DAS; BLAZQUEUZ, 2016);

O gênero *Cymbopogon* é caracterizado por possuir grande variabilidade morfológica e química, representado por quatro diferentes espécies aqui estudadas (Figura 1). Compreende plantas pertencentes à família Poaceae e está representado por cerca de 180 espécies, subespécies e variedades e subvariedades (Anexo 1). Muitas espécies são cultivadas para extração de óleo essencial, com grande importância comercial para cosméticos, alimentos e medicamentos (AKHILA, 2010a; AVOSEH et al., 2015; NATH et al., 2002; SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977).

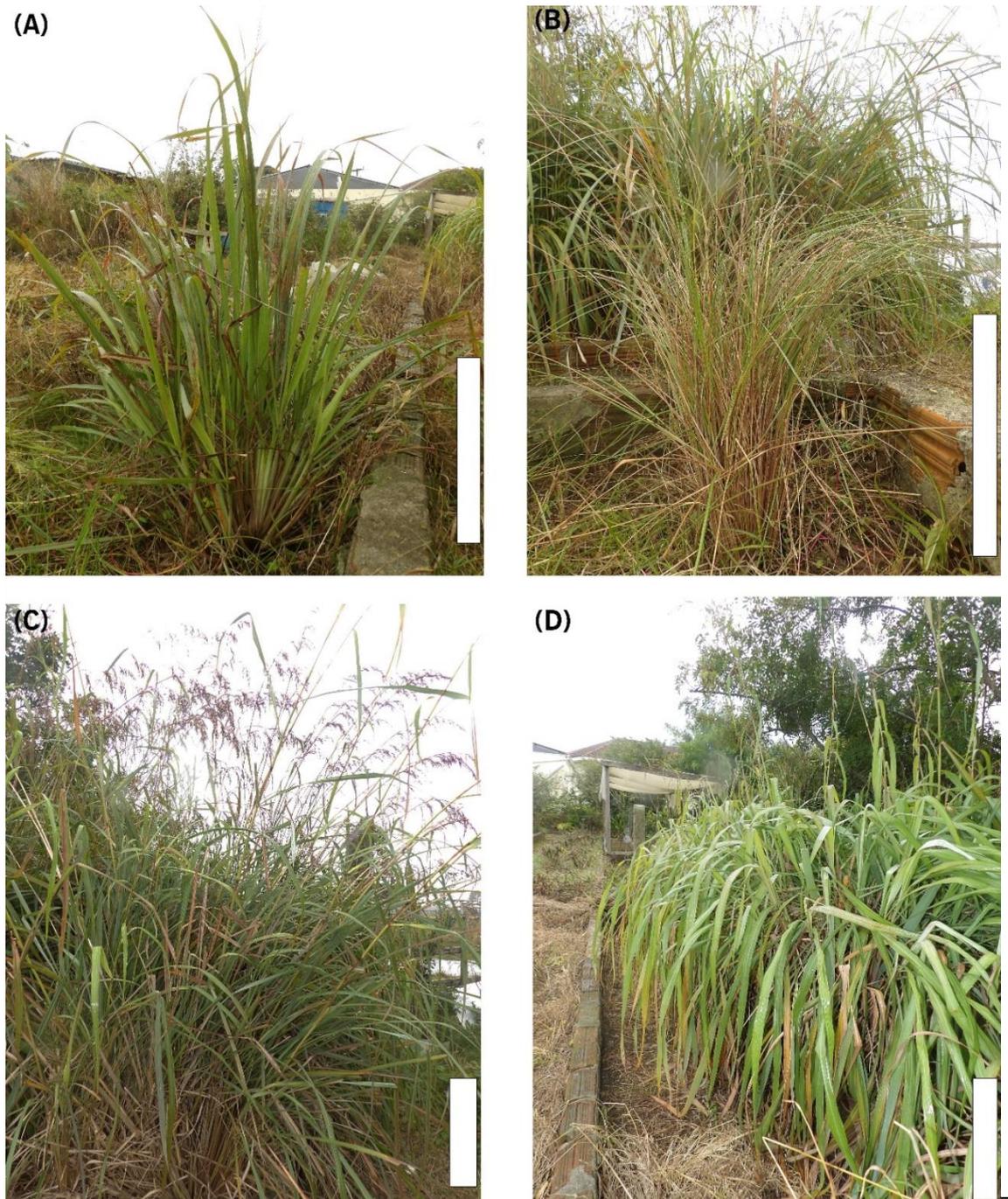


Figura 1 - Cultivo de espécies do gênero *Cymbopogon* utilizadas no estudo. (A) *C. citratus*; (B) *C. distans*; (C) *C. flexuosus*; (D) *C. winterianus*. Barras: 30 cm.

Plantas pertencentes a este gênero são perenes, raramente anuais, com crescimento cespitoso e são aromáticas. Possuem colmos eretos, que podem medir de 30 cm até 3 metros de altura. Suas folhas possuem lâminas lineares, com nervuras paralelas e normalmente glabras. As inflorescências são em espiguetas, dispostas em panículas (AKHILA, 2010a; LONGHI-WAGNER et al., 2001; SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977).

Plantas do gênero *Cymbopogon* possuem problemas relacionados reprodução sexuada, o que vem ocasionando diminuição da base genética do gênero rapidamente (AKHILA, 2010a). As espécies do gênero *Cymbopogon* utilizadas na medicina tradicional comumente são reproduzidas por divisão de touceira. A espécie *C. citratus* possui reprodução assexuada por apomixia (EMÍLIO et al., 1996), porém, raramente floresce no Brasil, o que impossibilita a produção de sementes (LONGHI-WAGNER et al., 2001).

As espécies do gênero *Cymbopogon* encontradas no Brasil foram introduzidas e aclimatadas na época colonial. Dentre as espécies que chegaram ao país encontram-se *C. citratus*, *Cymbopogon densiflorus* (Steud.) Stapf, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, *C. winterianus* e *C. flexuosus* (BARBOSA, 2007).

O gênero *Cymbopogon* ocorre naturalmente nos trópicos e subtropicais do Velho Mundo. São naturalmente distribuídas na África e na Ásia, especificamente em regiões caracterizadas por um clima relativamente seco, localizado na parte oriental da África e na parte central de Malásia (incluindo Filipinas, Sulawesi, Molucas, Java Central e Leste, o Ilhas Sunda menores), estendendo-se para a China Indochina no Mar da China Meridional (SOENARKO, 1977)

As espécies em estudo são cultivadas principalmente próximo aos trópicos e subtropicais, sendo *C. citratus*, muito cultivada na Ásia e América do Sul, *C. winterianus* é cultivada principalmente na Indonésia, *C. flexuosus* é comumente cultivada na Índia e Indonésia enquanto que *Cymbopogon distans* (Nees ex Steud.) Will. Watson é distribuída na Índia, Paquistão e China.

2.5. Etnobotânica

As espécies de *Cymbopogon* têm sido utilizadas na medicina tradicional em muitos países. De todas as espécies estudadas, *C. citratus* e *C. flexuosus* são os mais amplamente utilizados na medicina tradicional e convencional, devido ao potencial farmacológico de seus fitoquímicos. A maioria destas espécies contém quantidade volumosa de óleos essenciais que apresentam várias atividades biológicas (AVOSEH et al., 2015). Pesquisas têm demonstrado a presença de alcaloides, flavonoides, terpenóides em plantas de *Cymbopogon*, enfatizando assim, a importância do aprofundamento dos estudos sobre o gênero.

As espécies possuem diferentes usos de acordo com os locais onde são cultivadas (Tabela 2). Grande parte das espécies silvestres do gênero *Cymbopogon* são utilizadas tradicionalmente por pessoas nativas na forma de chá, na medicina popular, suplemento medicinal, repelente de insetos, controle da gripe e como analgésico e anti-inflamatório (AVOSEH et al., 2015; SOENARKO, 1977).

Tradicionalmente *C. citratus* é utilizado na Índia para febre e distúrbios digestivos, na Nigéria é utilizado para diabetes, inflamações e distúrbios nervosos, na Argentina é utilizado para dor de garganta, gripe, problemas digestivos e estomacais, na Colômbia é utilizada para limpar os dentes e para o controle de pragas, enquanto no Brasil é usado como analgésico, anti-inflamatório, diurético e calmante e/ou ansiolítico. Em Cuba é usado no controle do reumatismo, enquanto os extratos da raiz são utilizados para diabetes na Tailândia. No Egito, acredita-se que a planta fresca repele cobras, além de ser utilizado para cólera e como calmante e/ou ansiolítico. No sul da Ásia e na Malásia o *C. citratus* é amplamente utilizado na culinária como um condimento (Tabela 1) (AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011).

A espécie *C. flexuosus* é utilizada na Índia como cosmético, anti-séptico e para o tratamento de febre, já *C. winterianus* é utilizado no Brasil para o tratamento de ansiedade e como repelente (AVOSEH et al., 2015), enquanto *C. distans* é utilizado tradicionalmente no tratamento de inflamações e da tosse na China e Índia (ZHANG et al., 2011).

Geralmente plantas desse gênero não servem como alimento para animais, devido ao sabor desagradável, quando consumidas sem processamento. Somente cinco espécies do gênero são cultivadas comercialmente (*C. citratus*, *C. flexuosus*, *Cymbopogon Martini* (Roxb.) Will. Watson, *C. winterianus* e *C. nardus*) (SOENARKO, 1977).

Na Índia, existem registros que remontam a mais de 2000 anos o uso medicinal do óleo essencial de erva-cidreira, contudo, a sua destilação começou a ser realizada somente em 1890. Atualmente o óleo essencial de erva-cidreira (*C. citratus* e *C. flexuosus*) é considerado um importante *commodity* comercial (AKHILA, 2010a). O óleo essencial de citronela (*C. winterianus*) é considerado um dos 20 óleos essenciais mais importantes no comércio mundial, sendo que os Estados Unidos é o maior importador mundial, seguido da Europa, devido a presença da mundialmente famosa indústria de perfumaria na França e Alemanha (AKHILA, 2010).

Tabela 2 - Países de cultivo, nome comum e uso medicinal popular das quatro espécies do gênero *Cymbopogon*.

Espécies	País	Nome comum	Uso medicinal	Referência	
<i>C. citratus</i>	Índia	lemon grass	Febre, distúrbios digestivos	(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	México	zacate limón	Controle da pressão arterial	(DOMÍNGUEZ BARRADAS; CRUZ MORALES; GÓNZÁLEZ GÁNDARA, 2015)	
	Nigéria	lemon grass	Diabetes, inflamação e distúrbios nervosos	(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	Argentina	Limonaria	Gripe, problemas estomacais e digestivos e como decocção com outras plantas para a malária	(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	Cuba	cana santa		(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	Costa Rica	grass tea	Para aliviar tosse, carminativo, expectorante e depurativo	(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	Colômbia	Limonaria	É mastigado para limpar os dentes e para controle de pragas	(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	Egito	Lemongrass	Antiespasmódico renal e diurético	(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	Tailândia	Lemongrass	Condimento em alimentos, problemas estomacais e diabetes	(AVOSEH et al., 2015; SHAH et al., 2011)	
	Indonésia	sereh, serai	Ajuda a digestão, promove diurese, sudoração	(HIRSCHHORN, 1983)	
	França	verveine des Indes	Ação espasmódica e anti-infecciosa	(GOETZ, 2007; NEGRELLE; GOMES, 2007)	
	Alemanha	Zitronengras	Aromaterapia, culinária, chá de ervas	(YASAR; MELZIG, 2016)	
	Guatemala	zacate, limón, té de limón, zacate té	Para baixar a pressão arterial elevada e como um anti-inflamatório	(HALL; ROCHA; RODRÍGUEZ, 2002)	
	Espanha	zacate de limón, te de limón, canã de limón	Descongestionante nasal, catarros, febre, possui propriedade digestiva, hipnóticas e diurética	(HALL; ROCHA; RODRÍGUEZ, 2002)	
	Itália	Cimbopogone		(AMBROSE, 2016)	
	Portugal	erva-príncipe	Ação digestiva, combate azia e a indisposição, gengivites, aftas e candidíase, alivia problemas urinários	(FIGUEIREDO; PEDRO; BARROSO, 2014; GOULÃO, 2015)	
	Brasil	Região Sul	capim-cidreira, erva-cidreira		(GOMES; NEGRELLE, 1989)
		Região Sudeste	capim-cidrô, capim-limão, erva-cidreira		(LONGHI-WAGNER et al., 2001)
		Região Centro-Oeste	capim-cidreira	Analgésico, anti-inflamatório, diurético, cólicas intestinais e uterinas e para quadros leves de ansiedade e insônia, como calmante suave	(DAVID, 2015)
Região Norte		capim-santo		(XAVIER et al., 2005)	
Região Nordeste		capim-santo, capim-caatinga		(FURLAN et al., 2010)	

Espécies	País	Nome comum	Uso medicinal	Referência
<i>C. distans</i>	China		Tratamento de inflamações e da tosse	(CHAUHAN et al., 2016)
	Índia		Tratamento de inflamações e da tosse	(CHAUHAN et al., 2016)
<i>C. flexuosus</i>	Índia	lemongrass, vasana pullu, inchi puulu, therava pullu, cochin grass, malabar grass	Utilizado por algumas tribos para fazer xampu e para atrair abelhas. Utilizado como pesticida. Controle da tosse e as folhas com água fervida é usada para nebulização	(AVOSEH et al., 2015; DILEEP; GEETHA, 2015)
	Espanha	pasto de malabar		(REHN, 1994)
	França	verveine des Indes, herbe de malabar		(REHN, 1994)
	Alemanha	malabargrass, ostindisches lemongras		(REHN, 1994)
	Suécia	Citronellgräs		(EOL, 2018; REHN, 1994)
	Polônia	palczatka pogięta		(EOL, 2018; REHN, 1994)
	Bahamas	lemon grass, fever grass	Resfriados e gripes e, em geral, fortalecer os chás	(LEVY, 2018)
<i>C. winterianus</i>	Brasil	Região Sul	Citronela	(AVOSEH et al., 2015)
		Região Sudeste	Citronela	(BENETI et al., 2011)
		Região Centro-Oeste	Citronela	(AVOSEH et al., 2015)
		Região Norte	Citronela	(AVOSEH et al., 2015)
		Região Nordeste	Citronela	Tratamento de epilepsia e da ansiedade (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008)
	Vietnam		java citronella	(OUSSALAH et al., 2007)
	Índia		Citronella	Repelente e produtos sanitários (OUSSALAH et al., 2006)
	França		herbe citron de lava	(REHN, 1994)
Alemanha		Javacitronelle	(REHN, 1994)	

2.6. Identificação e caracterização taxonômica

A identificação de espécies é a determinação de um táxon, como sendo semelhante ou idêntico a outro, através da comparação com material depositado em herbários, chaves dicotômicas de identificação e literatura específica. Atualmente, a taxonomia vem utilizando novas ferramentas, além da morfologia, para a correta identificação de espécies, como a anatomia, embriologia, análise de produtos do metabolismo secundário, citologia, enzimas e DNA (KHANUJA et al., 2005; MARTINS-DA-SILVA, 2002).

As gramíneas são agrupadas taxonomicamente com base em diversos atributos morfológicos, principalmente os relacionados à flor (espiguetas), mas também de acordo com uma variedade de características micro taxonômicas variáveis. As gramíneas possuem diversas características complexas, sendo difícil classificá-las apenas com base em características morfológicas aparentes (CHAUDHARI et al., 2013).

A grande variação dos caracteres morfológicos e anatômicos das espécies está ligada a um conjunto de fatores adaptativos, que vem ocorrendo ao longo da evolução e proporcionaram sucesso na sobrevivência das plantas em determinados meios. Essas características fornecem dados importantes sobre a ecologia das plantas e são importantes na descrição sistemática das espécies vegetais (BARBOSA, 2007).

Poucos são os estudos sobre as características morfológicas e anatômicas das espécies do gênero *Cymbopogon*, bem como os estudos comparativos entre as mesmas, buscando a distinção entre as espécies. Os dados comparativos de anatomia fornecem informações úteis para encontrar ligações taxonômicas e derivações evolutivas, além de contribuir para a compreensão das adaptações ambientais, fornecendo subsídios para estudos de melhoramento genético. Muitos estudos anatômicos foram inspirados pela necessidade de entender como as plantas crescem e se desenvolvem, sendo estas informações de vital importância para a compreensão do controle genético e molecular envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas (SEGATTO et al., 2004; STEEVES; SAWHNEY, 2017).

2.7. Metabolismo secundário

O metabolismo secundário das plantas é composto por diversas classes de fitoquímicos, que possuem uma imensa diversidade química. Esses compostos, na sua maioria, ainda são um enigma em relação a sua função biológica e possuem uma gama de atividades farmacológicas (GANDHI; MAHAJAN; BEDI, 2015). Sabe-se que o metabolismo secundário está relacionado a manutenção da sobrevivência das espécies, através da produção de compostos que atuam na defesa contra herbívoros e patógenos, como atrativos para polinizadores e dispersores de sementes, além de atuarem como barreiras químicas para evitar a perda de água através da folha, no entanto, os papéis biológicos da maioria dos compostos ainda são desconhecidas (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007; WOLFFENBÜTTEL, 2010). As vias de produção dos metabólitos secundários costumam ser características para determinadas famílias botânicas ou gêneros em particular e estão diretamente ligadas ao mecanismo evolutivo das espécies (BRATT, 2000).

Os metabólitos secundários são classificados de acordo com a sua origem biossintética. A biossíntese dos aminoácidos aromáticos gera estruturas como fenilpropanóides, flavonoides, estilbenos e antocianinas. Os terpenos são derivados a partir de um bloco de construção de cinco carbonos de difosfato de isopentenilo e do seu isômero difosfato de dimetilalilo (O'CONNOR, 2015). Essas informações estão disponíveis devido a experimentos que identificam genes e enzimas envolvidos na biossíntese dos metabólitos secundários, podendo assim, rastrear as rotas químicas precisas dos compostos em geral (GANDHI; MAHAJAN; BEDI, 2015).

Os terpenoides constituem cerca de um terço de todos os metabólitos secundários conhecidos e são os principais constituintes dos óleos essenciais. A composição química dos óleos essenciais é uma combinação de um número variável de substâncias orgânicas tais como: hidrocarbonetos terpênicos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas, podendo abranger centenas de substâncias, em diversas concentrações, que variam de baixíssimas quantidades (traços) a compostos majoritários (GANDHI; MAHAJAN; BEDI, 2015; WOLFFENBÜTTEL, 2010).

Os terpenos podem ser classificados como monoterpenos, diterpenos, triterpenos e sesquiterpenos e tetraterpenos (carotenoides). Os monoterpenos são conhecidos como constituintes do óleo essencial de plantas medicinais e aromáticas,

justificando sua importância para a indústria de perfumes e aromatizantes. O geraniol, limoneno, linalol e o citral são exemplos de monoterpenos. Os sesquiterpenos costumam atuar como compostos antimicrobianos (fitoalexinas) e combatem o ataque de herbívoros, sendo exemplos desta classe, o germacreno, muuruleno e cariofileno (JIA et al., 2017).

O citral está entre os principais componentes presentes no óleo essencial de diversas espécies do gênero *Cymbopogon* (Tabela 1), tendo grande uso industrial como matéria-prima para confeitaria, perfumaria e vitamina A. Outros componentes de interesse presentes em plantas do gênero são o citronelal, geraniol, citronelol, mirceno e elemol (D'AVILA et al., 2016; RANA; DAS; BLAZQUEZ, 2016; SINGH; KUMAR, 2017; WANY et al., 2013).

Outros compostos encontrados em plantas de *Cymbopogon* são os polifenóis, incluindo os ácidos fenólicos, flavonoides e taninos condensados. O conhecimento do conteúdo de compostos fenólicos presentes nos alimentos à base de vegetais é uma importante ferramenta para o entendimento do seu papel na saúde humana, bem como para programas que visam o aumento do seu consumo. Em geral, os compostos fenólicos costumam ser classificados nas seguintes categorias: fenóis, ácidos fenólicos fenilpropanoides e flavonoides, sendo que neste último grupo encontram-se as isoflavonas, flavonas, flavononas e antocianinas (SANTOS et al., 2017).

Nas plantas, os compostos fenólicos possuem funções de atração de polinizadores e dispersores de sementes, resistência a UV, fungos, bactérias e vírus, estresse oxidativo e interfere nas interações inter-espécies (JIANG; DOSEFF; GROTEWOLD, 2016)

O consumo de plantas contendo compostos fenólicos está associada à muitos benefícios para a saúde, como a atividade antioxidante e anti-inflamatória, que elimina radicais livres, além de proteger contra doenças degenerativas e cardiovasculares (COSTA et al., 2016a, 2016b; FIGUEIRINHA et al., 2008; GODWIN et al., 2014; TAVARES et al., 2015). Estudos mostram que a luteolina, glicosídeos de apigenina e as proantocianidinas são compostos que contribuem fortemente para a existência das propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias contidas nas infusões feitas à base de plantas de *Cymbopogon* sp. (COSTA et al., 2015, 2016a; FIGUEIRINHA et al., 2010).

3. Capítulo 1: Caracterização morfo-anatômica de quatro espécies do gênero *Cymbopogon* (Poaceae)

3.1. Introdução

As plantas sempre foram utilizadas pelos seres humanos como alternativa no combate a enfermidades. Acredita-se que existem entre 350 a 400 mil espécies de plantas registradas em todo mundo e grande parte delas são utilizadas no tratamento de diferentes doenças. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, em países de terceiro mundo, 80% da população utiliza medicamentos fitoterápicos no sistema de atendimento primário à saúde. Na medicina moderna, o conhecimento tradicional de plantas medicinais serve como base para a indústria farmacêutica desenvolver novos medicamentos que podem prevenir e tratar várias doenças (AZIZ et al., 2017, 2018; BAHARVAND-AHMADI; ASADI-SAMANI, 2017; KARKANIS et al., 2018).

As plantas medicinais são conhecidas geralmente pelo seu nome popular, o que leva muitas vezes à identificação errônea. A semelhança morfológica entre espécies do mesmo gênero pode acarretar na intoxicação devido ao consumo indevido de algumas plantas, isso ocorre porque a mesma espécie as vezes recebe diversos nomes populares, dependendo da região em que foi encontrada, ou o mesmo nome é utilizado para diferentes espécies, com características químicas, biológicas e toxicológicas distintas. Neste sentido, a caracterização anatômica e morfológica vem auxiliar na identificação correta das espécies, e apresenta elevada importância por se tratar de uma análise rápida e de baixo custo quando comparada a outros métodos de caracterização, além de auxiliar na identificação de possíveis contaminantes em amostras comerciais de chás (CONCEIÇÃO; AOYAMA, 2016; VERDAM; SILVA, 2010).

Plantas como *Aloysia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Melissa officinalis*, *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon pendulus* são conhecidas popularmente como erva-de-limão, devido ao citral, componente do óleo essencial com aroma de limão, e por esta razão muitas vezes são utilizadas e comercializadas como sendo a mesma espécie (AKHILA, 2010b; YESIL; AKALM, 2015). Além de capim-limão, a espécie *Cymbopogon citratus* também é conhecida por diversos outros nomes populares, dependendo da região em que é cultivada, sendo eles: *lemongrass*, *limonaria*, *cana*

santa, capim-santo, capim-cidreira, erva-cidreira e *grass tea* (AVOSEH et al., 2015; NEGRELLE; GOMES, 2007).

O gênero *Cymbopogon*, pertencente à família Poaceae, é composto por cerca de 140 espécies, subespécies e variedades, são originárias de regiões próximas aos trópicos e subtropicais da África, Ásia e Austrália, predominantemente na Ásia e introduzidas na América tropical (introduzidas na época colonial) e China (BARBOSA, 2007; SHOULIANG; PHILLIPS, 2006). São espécies perenes, cespitosas e aromáticas e frequentemente apresentam colmos eretos, variando de 30 cm a 3 metros de altura, apresentam lâmina foliar linear e inflorescências em espiguetas dispostas em panículas (SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977). As plantas do gênero *Cymbopogon* são altamente tolerantes ao estresse e costumam adaptar-se facilmente a diversas condições ambientais, sendo muito cultivadas para extração de óleo essencial, apresentando grande importância medicinal, alimentar e industrial (WANY et al., 2013). Possuem metabolismo C4, caracterizado pela presença da anatomia Kranz, que torna as plantas mais eficientes sob condições de estresse, como alta temperatura (RODRIGUES; ESTELITA, 2003). Nas Liliopsidas, a anatomia Kranz é encontrada apenas em plantas pertencentes as famílias Cyperaceae e Poaceae (WELKIE; CALDWELL, 1970), família a qual o gênero *Cymbopogon* pertence.

A espécie *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, de origem desconhecida, é muito cultivada próximo aos trópicos e em grande escala em partes da Ásia e América do Sul para a produção de óleo essencial. É uma planta rizomatosa e perene, com aspecto farinhoso abaixo dos nós, medindo até 2 metros de altura. As folhas são densamente concentradas na base da planta, glabras com cerca de 90 cm de comprimento e até 2 cm de largura, com ambas as superfícies escamosas, cor verde-azul brilhante e a base gradualmente estreitada. Inflorescência com 25 cm de comprimento e ereta, e raramente florescem (LONGHI-WAGNER et al., 2001; SOENARKO, 1977; YESIL; AKALM, 2015).

Cymbopogon distans (Nees ex Steud.) Will. Watson, está distribuída na Índia, Paquistão e China, sendo encontrado em encostas de montanhas, vales e campos abertos em grandes altitudes. É uma planta perene, pouco explorada, e diferentemente das demais espécies da série *citrati*, possui lâminas foliares estreitas e filiformes, planas ou dobradas, com até 35 cm de comprimento de coloração verde claro a verde escuro. Possui pelos rígidos e curvos dispersos na superfície adaxial da

folha, e panícula simples e interrompida (CHAUHAN et al., 2016; SOENARKO, 1977; VERMA; PADALIA; CHAUHAN, 2013a, 2013b).

Cymbopogon flexuosus (Nees ex Steud.) Will. Watson, nativa da Índia e cultivado nos trópicos, é uma planta rizomática, perene, ereta, podendo chegar a 3 metros de altura. As folhas são linear-lanceoladas, glabras, com até 100 cm de comprimento e 1,5 cm de largura, estreitadas na base. Possui pilosidade na base da superfície adaxial da folha. A panícula é grande e inclinada, chegando a 60 cm de comprimento, de cor avermelhada (SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977).

Cymbopogon winterianus Jowitt ex Bor tem sua origem desconhecida, sendo cultivado principalmente na Indonésia. É uma planta perene com rizomas pouco enraizados e pode chegar a 2,5 metros de altura. As folhas podem atingir 100 cm de comprimento por até 2,5 cm de largura, com coloração verde clara com cerca de 2/3 do seu comprimento inclinada. Sua panícula é grande, com cerca de 1 metro de comprimento, muito ramificada, com eixo principal em zigue-zague (SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977).

Alguns estudos já descreveram as características morfoanatômicas da espécie *Cymbopogon citratus* (LEWINSOHN et al., 1998; BERTEA et al., 2003; ELTAHIR; ABUEREISH, 2010; YESIL; AKALM, 2015). No entanto, não se tem relatos na literatura acerca da comparação e caracterização completa das demais espécies em estudo (*Cymbopogon distans*, *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon winterianus*).

Dessa forma, devido à identificação muitas vezes incorreta das espécies do gênero *Cymbopogon*, bem como a necessidade do conhecimento detalhado das características morfológicas e anatômicas, este estudo tem como principal objetivo identificar, caracterizar e comparar morfoanatomicamente as espécies *C. citratus*, *C. distans*, *C. flexuosus* e *C. winterianus*.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Material vegetal e condições de cultivo

O cultivo foi realizado em canteiros localizados no município do Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil (31° 48' S, 52° 24' O, altitude de 14 m) em 2016/2017 (dados sobre as condições climáticas deste período podem ser encontrados no Apêndice A).

A região possui clima subtropical úmido (Cfa) e solo classificado como argissolo vermelho amarelo distrófico (ALVARES et al., 2014; SANTOS et al., 2014).

As espécies utilizadas no estudo foram: *C. citratus* (Figura 1 A), *C. distans* (Figura 1 B), *C. flexuosus* (Figura 1 C) e *C. winterianus* (Figura 1 D), pertencentes a família Poaceae. As espécies *C. flexuosus* e *C. winterianus* foram coletadas em Campinas (SP), a espécie *C. citratus* foi coletada no Capão do Leão (RS) e a espécie *C. distans* foi coletada em Frederico Westphalen (RS). Todas as espécies foram depositadas no herbário da Universidade Federal de Pelotas sob os números PEL 26.955, PEL 26.956, PEL 26.972 e PEL 26.973, respectivamente (Apêndices B e C). A identificação botânica das espécies foi realizada com base em chaves taxonômicas do gênero (LONGHI-WAGNER et al., 2001; SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977).

3.2.2. Variáveis morfológicas, caracterização anatômica e impressão de epiderme

Após um ano de cultivo, ou seja, quando as plantas atingiram o máximo crescimento vegetativo, antes do início do florescimento, foram avaliadas as seguintes características: altura de planta (cm), sendo medida a planta na forma como está no campo, sem esticar suas folhas, comprimento do colmo (cm), comprimento das folhas do terço médio das plantas (cm), e largura da parte mediana da folha (cm). Foram observadas características visuais das plantas que possam ser utilizadas para diferenciação entre as espécies.

Para os estudos anatômicos, foram coletadas folhas do terço médio das plantas, retirando-se a porção média da lâmina (limbo). As amostras foram imediatamente fixadas em solução de FAA (Formaldeído 37%, etanol 70% e ácido acético glacial), por aproximadamente 48 horas. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato (Historesina, Leica Instruments). Foram realizados cortes transversais da porção média das folhas, com espessura de 5 μ m, obtidos em micrótomo rotativo Leica SM 2000R. Para a caracterização anatômica, as amostras foram coradas por 10 minutos em azul de toluidina a pH 4,0 (O'BRIEN; MCCULLY, 1981). As lâminas foram montadas em água destilada apenas para captura das imagens utilizando o fotomicroscópio Leica (DM 1000), com câmera acoplada (Leica DFC 295).

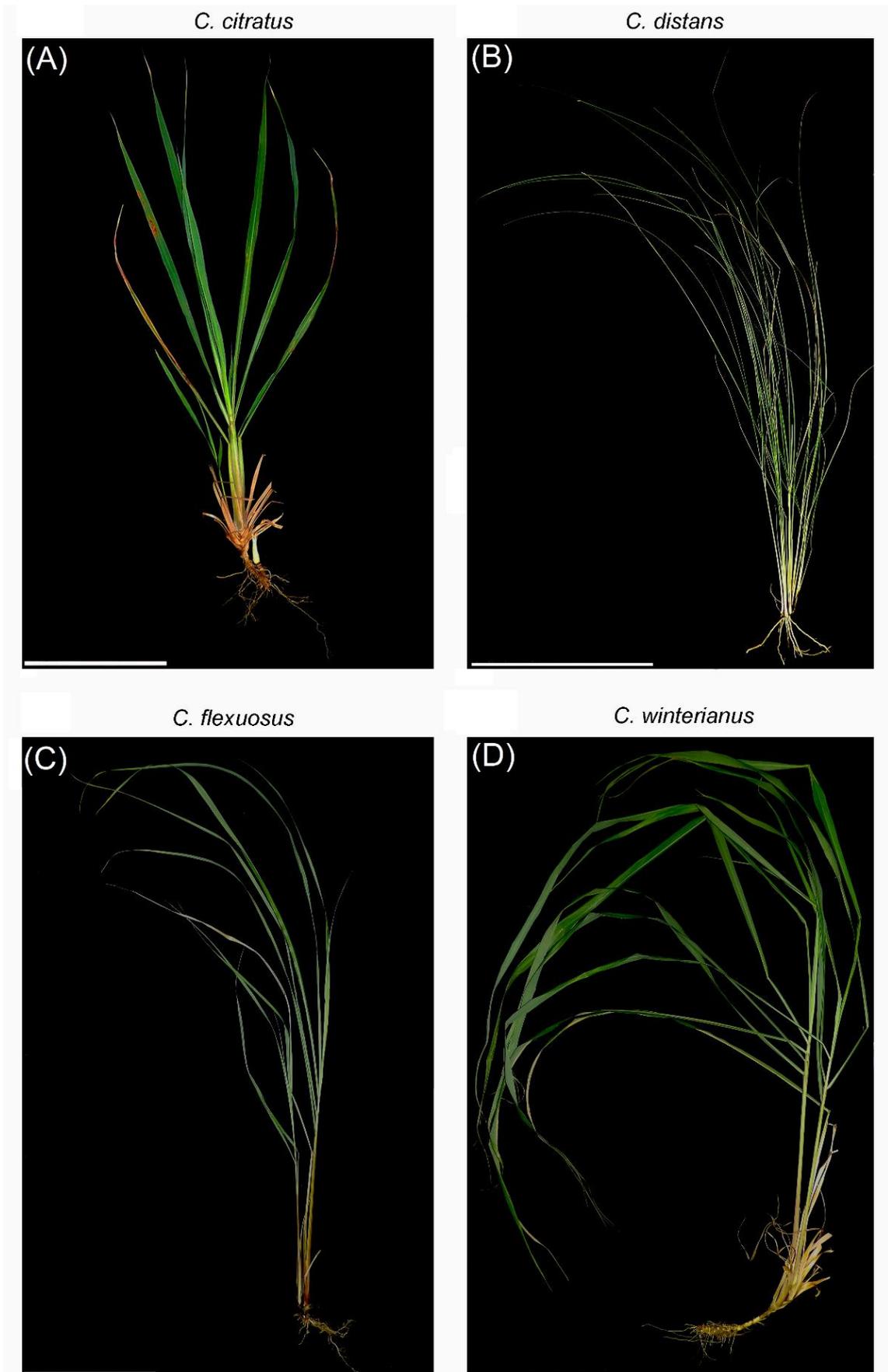


Figura 1 - Espécies do gênero *Cymbopogon* utilizadas no estudo. (A) *C. citratus*; (B) *C. distans*; (C) *C. flexuosus*; (D) *C. winterianus*. Barras: 30 cm.

Para as variáveis de caracterização anatômica, foram realizadas medições de espessura da nervura principal (μm), largura e comprimento do feixe vascular principal (μm), espessura da epiderme abaxial (μm) e espessura da cutícula adaxial e abaxial (μm). Para realização das medições, foi utilizado o programa ImageJ (SCHNEIDER; RASBAND; ELICEIRI, 2012). A espessura da epiderme adaxial não foi mensurada devido a presença das células buliformes, que tornam a epiderme irregular.

Para a impressão de epiderme, foram avaliadas as seguintes variáveis: índice estomático da porção abaxial e adaxial (%), largura dos estômatos (μm) e comprimento dos estômatos (μm). Para isso, foram coletadas folhas da região mediana das plantas e separado o terço médio de cada folha, sendo utilizada a técnica de impressão de epiderme das porções abaxial e adaxial, seguindo metodologia de Segatto et al. (2004). O cálculo do índice estomático foi realizado utilizando a equação:

$$\text{Índice Estomático (IE\%)} = \text{NE}/(\text{CE} + \text{NE}) * 100$$

em que: NE é o número de estômatos e CE o número de células epidérmicas.

Para determinar o índice estomático das porções abaxial e adaxial foi utilizado o mesmo fotomicroscópio citado anteriormente, sendo calculado utilizando o programa Anati-quant (AGUIAR et al., 2007) e para as medidas de largura e comprimento dos estômatos utilizou-se o programa ImageJ, sendo posteriormente multiplicado a largura pelo comprimento para obter o tamanho dos estômatos.

3.2.3. Delineamento experimental e análise estatística

O Delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com três repetições por espécies, sendo cada unidade experimental composta por uma planta (touceira). Para as variáveis morfológicas, realizou-se 10 medidas por repetição. Para o índice estomático das porções adaxial e abaxial, tamanho dos estômatos, utilizou-se três folhas por repetição. Este é um trabalho de pesquisa descritiva indutória. Todas as variáveis foram submetidas a análise de agrupamento hierárquico (R CORE TEAM, 2014).

3.3. Resultados

Pela análise de variância, foi possível observar que houve diferença significativa entre as espécies do gênero *Cymbopogon* avaliadas. Todas as variáveis morfológicas

avaliadas demonstraram diferença entre as espécies, bem como todas as variáveis relacionadas a caracterização anatômica e de impressão de epiderme.

3.3.1. Caracteres morfológicos

As espécies apresentaram características morfológicas diferenciadas, o que facilita a distinção entre elas. As espécies *C. flexuosus* e *C. winterianus* apresentaram folhas significativamente mais longas, quando comparadas com *C. citratus* e *C. distans* (Figura 2 A).

Para a variável comprimento do colmo, *C. distans* apresentou colmo inferior, com cerca de 11 cm, enquanto *C. winterianus* apresentou comprimento de colmo superior as demais espécies, com média de colmo de 57 cm (Figura 2 A). A variável altura de plantas apresentou diferença entre as espécies, onde destacou-se a espécie *C. flexuosus*, com cerca de 140 cm de altura, já *C. distans* apresentou-se com menor altura, com aproximadamente 45 cm. Para largura de folhas, *C. winterianus* apresentou a maior largura quando comparado as demais espécies (Figura 2 A).

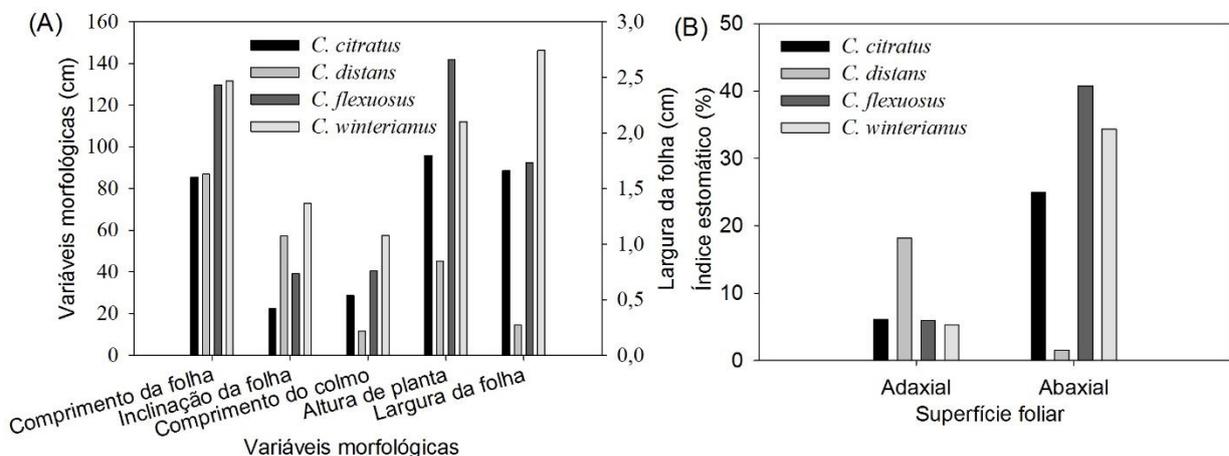


Figura 2 - Variáveis morfológicas (comprimento de folha, comprimento do colmo, (A) altura de planta e largura de folha, e (B) índice estomático da face adaxial e abaxial de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*.

A espécie *C. citratus* possui acúmulo de cera de cor branca no colmo, e folhas concentradas na base do colmo (Figura 3 A), característica esta não observada nas demais espécies. Quanto a coloração das folhas, *C. citratus* apresentou folhas de cor verde-azulada, *C. distans* e *C. flexuosus* apresentaram folhas verde escuras e *C. winterianus* apresentou folhas verde claras (Figura 3 E). Das espécies avaliadas, duas

apresentaram pilosidade nas folhas, sendo que em *C. distans* observou-se pêlos curtos e rígidos distribuídos por toda superfície adaxial das folhas, de forma densa (Figura 3 B). Em *C. flexuosus*, observou-se a presença de pelos na face adaxial das folhas, mas somente próximo a bainha, sendo os pelos longos e finos. As espécies *C. citratus* e *C. winterianus* apresentaram folhas glabras em ambas as faces.

As espécies também apresentaram inclinação das folhas em relação ao seu comprimento total diferenciado, sendo que em *C. citratus* observou-se que as folhas eram eretas, em *C. distans* e *C. flexuosus* observou-se que houve inclinação do terço final das folhas, enquanto que em *C. winterianus*, cerca de dois terços do comprimento total da folha eram inclinados em direção ao solo (Figura 2 A). A espécie *C. flexuosus* foi caracterizada por apresentar inflorescência de cerca de 60 cm de comprimento com coloração avermelhada (Figura 3 C) e *C. winterianus* apresentou inflorescência de até um metro de comprimento, de coloração esverdeada e ráquis em zigue-zague (Figura 3 D). As espécies *C. citratus* e *C. distans* não floresceram no período de avaliação.

3.3.2. Variáveis anatômicas

Foi possível observar que o índice estomático apresentou diferença entre as espécies estudadas, sendo que na face adaxial a espécie que apresentou valor superior foi *C. distans* com 18,2%, nas demais espécies observaram-se valores semelhantes entre 5,2 a 6,1%. Para a face abaxial, *C. flexuosus* foi a espécie que apresentou índice estomático superior, chegando a 40,8%, seguida de *C. winterianus* com 34,4%, *C. citratus* com 25,0% e *C. distans* com apenas 1,6% (Figura 2 B).

Para a variável índice estomático, observou-se que *C. distans* possui maior concentração de estômatos na face adaxial da folha (anfiepiestomática), característica diferente das demais espécies em estudo, que apresentaram a maioria dos estômatos na face abaxial (anfi-hipoestomática) (Figura 2 B, Figura 5 A, 5 B, 5 E, 5 F, 5 G e 5 H).

O tamanho de estômatos variou de acordo com as espécies em estudo e a face em que se encontram. Na face adaxial, os estômatos de *C. distans* foram maiores que nas demais espécies e na face abaxial os estômatos de *C. citratus* foram maiores (Tabela 1).

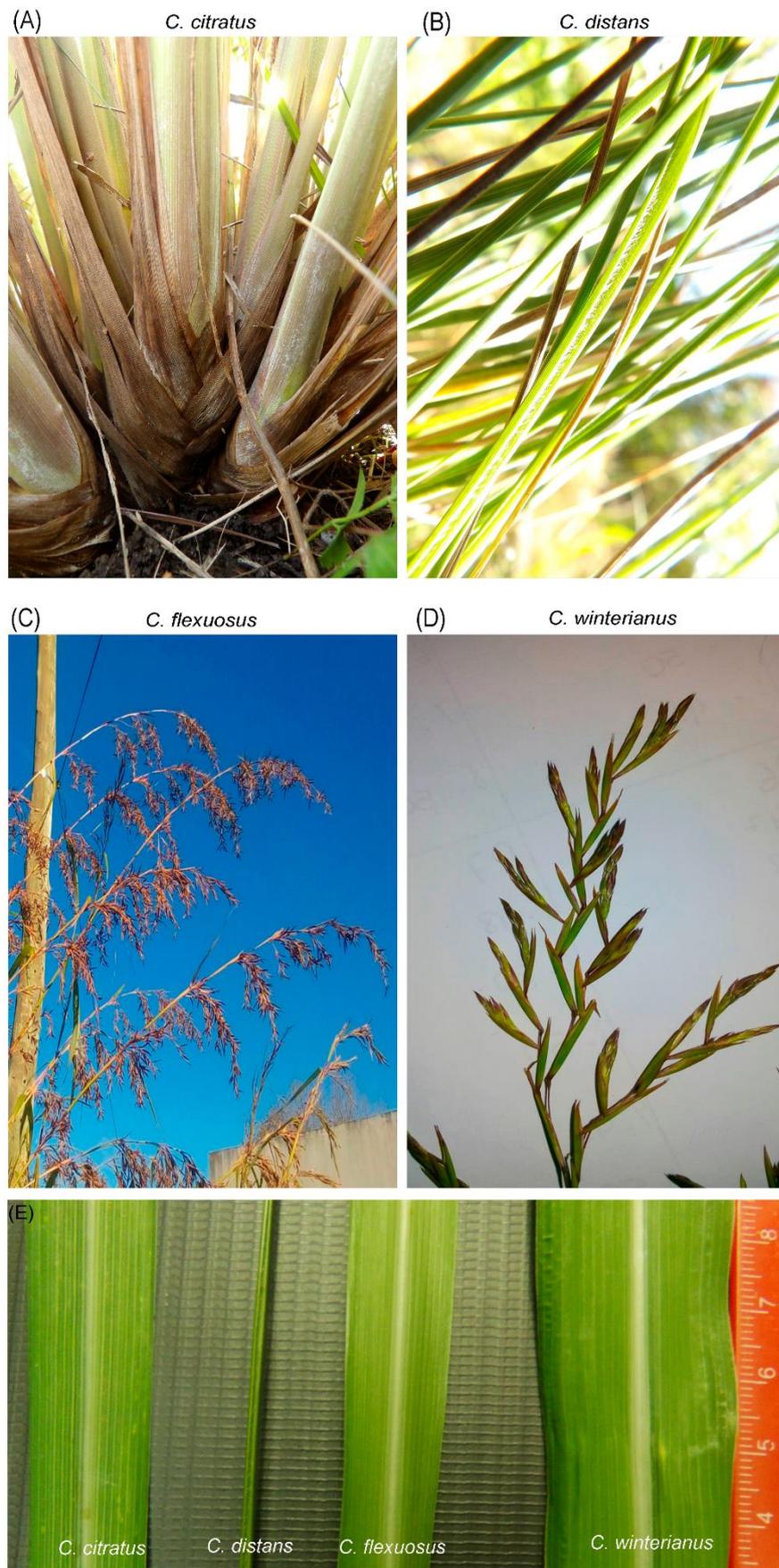


Figura 3 - Variáveis morfológicas características das quatro espécies do gênero *Cymbopogon*. (A) *C. citratus*; (B) *C. distans*; (C) *C. flexuosus*; (D) *C. winterianus*; (E) Folhas das quatro espécies.

Tabela 1- Tamanho dos estômatos da face adaxial e abaxial de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*.

Espécie	Adaxial (μm^2)	Abaxial (μm^2)
<i>C. citratus</i>	674.10	636.00
<i>C. distans</i>	960.44	538.29
<i>C. flexuosus</i>	285.40	236.66
<i>C. winterianus</i>	307.19	216.09

Ao avaliar os cortes transversais da nervura principal (Figura 4 A e Figura 6 A, 6 C, 6 E e 6 G), observou-se que *C. flexuosus* apresentou espessura da nervura principal superior (672,8 μm) e *C. distans* possui a nervura principal com espessura inferior (195,7 μm) dentre as espécies em estudo. A espécie *C. distans* também apresentou o feixe vascular primário da nervura principal com largura e comprimento inferior (97,4 e 136,4 μm , respectivamente) em relação as demais espécies (Figura 4 A).

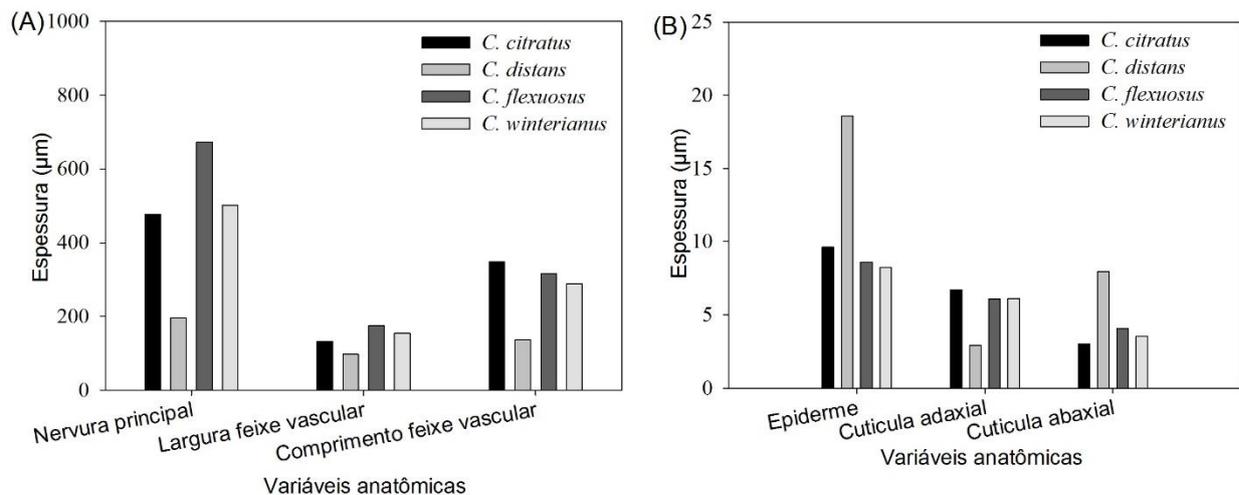


Figura 4 -:Variáveis anatômicas de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*: **(A)** Espessura da nervura principal. Largura dos vasos condutores, comprimento dos vasos condutores; **(B)** Espessura da epiderme abaxial, espessura da cutícula adaxial e espessura da cutícula abaxial.

Em relação a espessura da epiderme da face abaxial, observou-se que *C. distans* possui epiderme com espessura superior (18,6 μm) (Figura 4 B), enquanto as demais espécies apresentaram valores entre 9,6 e 8,2 μm . A cutícula da face adaxial foi mais espessa nas espécies *C. citratus*, *C. flexuosus* e *C. winterianus* (6,7, 6,0 e 6,1 μm respectivamente). Para *C. distans*, observou-se cutícula adaxial com espessura inferior (2,9 μm) (Figura 4 B). Na face abaxial, *C. distans* possui espessura de cutícula

superior (7,9 μm) e *C. citratus* com espessura de cutícula inferior (3,0 μm) (Figura 4 B).

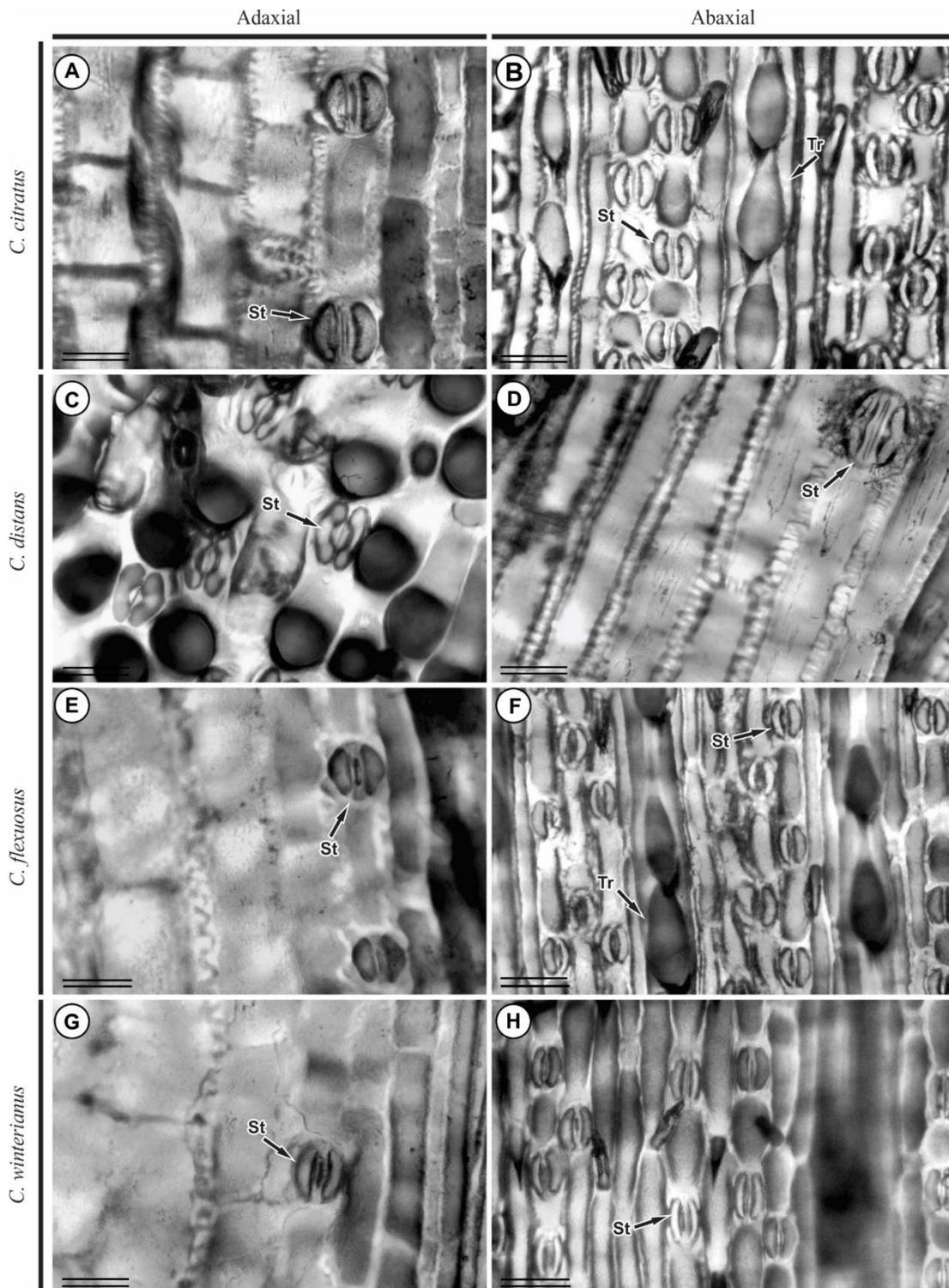


Figura 5 - Distribuição dos estômatos na face adaxial e abaxial das folhas de quatro espécies de *Cymbopogon*: (A e B) *C. citratus*; (C e D) *C. distans*; (E e F) *C. flexuosus*; (G e H) *C. winterianus*. St – estômatos; Tr – tricomas. Barras: 50 μm .

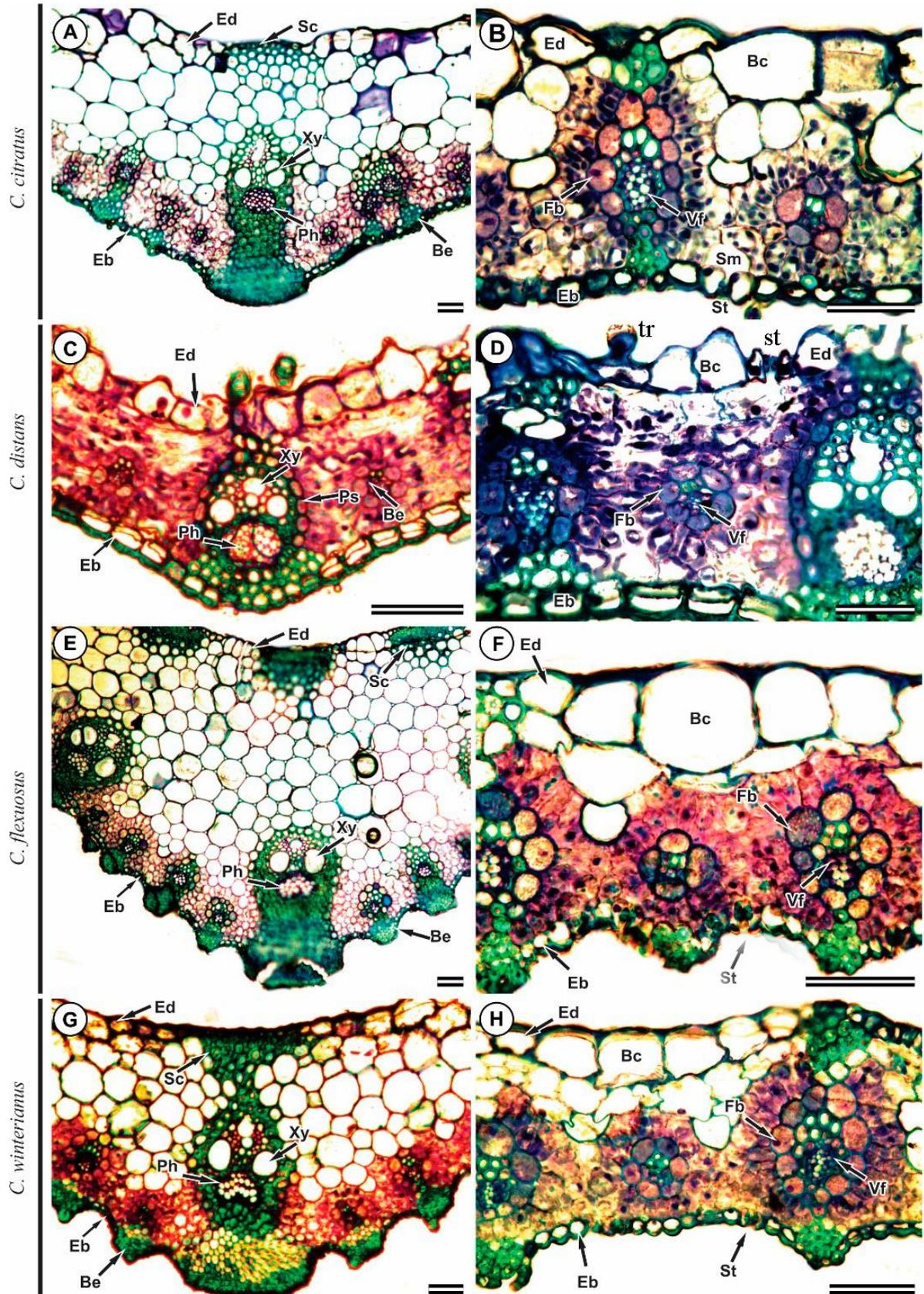


Figura 6 - Cortes transversais da nervura principal e limbo foliar de quatro espécies do gênero *Cymbopogon*: (A e B) *C. citratus*; (C e D) *C. distans*; (E e F) *C. flexuosus*; (G e H) *C. winterianus*. Bc: células buliformes; Be: Extensão do feixe; Eb: epiderme abaxial; Ed: epiderme adaxial; Fb: bainha do feixe; Fv: feixe vascular; Ph: Floema; Ps: Bainha parenquimática; Sc: Calota esclerenquimática; Sm: Câmara subestomática; St: Estômato; tr: Tricoma grândular; Xy: Xilema. Barras: 50 µm.

O acúmulo de esclerênquima em *C. flexuosus* e *C. winterianus* abaixo da extensão do feixe vascular, fornece o aspecto ondulado à face abaxial da folha, já em *C. citratus* esse mesmo aspecto foi pouco evidente, e para *C. distans*, nulo (Figura 6 A, 6 C, 6 E e 6 G). Em *C. distans* observou-se que a calota esclerenquimática apresentou de uma a duas camadas de células, enquanto que as demais espécies apresentaram de três a quatro camadas.

Quanto aos feixes vasculares, *C. distans*, *C. citratus* e *C. winterianus* apresentaram apenas um feixe vascular de primeira ordem na nervura principal, intercalado com feixes vasculares menores (de segunda ordem e de terceira ordem). A espécie *C. flexuosus* exibiu três feixes vasculares de primeira ordem na nervura principal, intercalados com diversos feixes vasculares menores de segunda e terceira ordem. Na nervura principal de *C. citratus*, *C. flexuosus* e *C. winterianus* observou-se diversas células de parênquima de preenchimento, células estas, que não foram encontradas em *C. distans* (Figura 6 A, 6 C, 6 E e 6 G).

Todas as espécies estudadas apresentaram células buliformes (Figura 6 B, 6 D, 6 F e 6 G), porém, em *C. distans* elas não foram tão evidentes. As células do mesófilo apresentaram-se uniformes, sem espaços intercelulares e dispostas de forma radial, com distância internerval de duas a três células. Todas as espécies apresentaram anatomia Kranz, cercadas pelo parênquima clorofiliano (Figura 6 B, 6 D, 6 F e 6 G). Os estômatos foram mais evidentes em *C. citratus*, apresentando uma grande câmara subestomática (Figura 6 B).

A partir das avaliações morfológicas e anatômicas realizadas nas espécies *C. citratus*, *C. distans*, *C. flexuosus* e *C. winterianus* foi estabelecido um dendrograma de agrupamento, no qual observou-se que *C. distans* apresentou maior distância das demais espécies, sendo *C. citratus* e *C. winterianus* as espécies mais próximas (Figura 7).

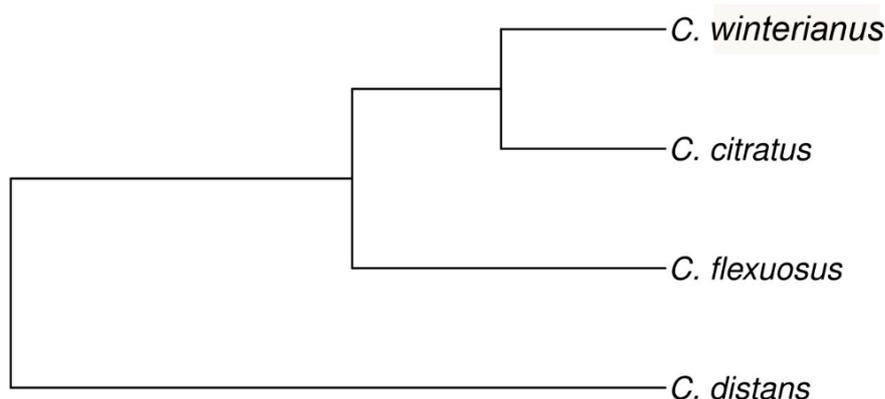


Figura 7 - Dendrograma da análise de agrupamento com base nas características morfológicas e anatômicas de quatro espécies de *Cymbopogon*.

3.4. Discussão

Poucos são os estudos voltados para comparar a morfologia e anatomia do gênero *Cymbopogon*, sendo que a maior descrição encontrada está na chave taxonômica do gênero, apresentada de forma mais geral (SOENARKO, 1977). As espécies avaliadas apresentaram características morfológicas e anatômicas típicas de gramíneas, com presença de anatomia Kranz, característico de plantas C4, e estômatos em forma de halteres, porém evidenciaram algumas características que podem ser utilizadas para a distinção entre as espécies.

As características de coloração e pilosidade das folhas e disposição e coloração das inflorescências são de extrema importância para a diferenciação entre as espécies, estando estas entre as principais características utilizadas pela chave taxonômica do gênero (SOENARKO, 1977). Algumas variáveis morfológicas avaliadas apresentaram-se com valores acima dos descritos na literatura em geral, porém, deve-se considerar que as espécies avaliadas foram cultivadas em solo fértil, com ótimas condições de cultivo, sem falta de água e exposição à radiação solar. Todas as espécies estudadas apresentaram altura de planta dentro do descrito na literatura (SHOULIANG; PHILLIPS, 2006; SOENARKO, 1977), porém, o comprimento e largura de folhas de algumas das espécies demonstraram valores superiores aos descritos, confirmando que podem ter sofrido influência do ambiente de cultivo.

Os estômatos são estruturas que promovem trocas gasosas nas plantas (vapor d'água e o CO₂ entre o interior da folha e a atmosfera) e também evitam a perda excessiva de água, contribuem para a capacidade da planta em controlar suas

relações hídricas e ganho de carbono. As plantas podem regular as trocas gasosas através do controle da abertura do poro estomático e variando o número de estômatos que se formam na epiderme. Essa regulação pode ocorrer através de sinais ambientais, como a concentração de dióxido de carbono atmosférico, intensidade luminosa e concentração de hormônios vegetais endógenos (HETHERINGTON; WOODWARD, 2003).

Dentre as espécies em estudo, foi possível observar que todas apresentaram estômatos em ambas as faces, sendo classificadas como anfiestomáticas (CUTLER; BOTHA; STEVENSON, 2007). A espécie *C. distans* é anfiestomática, ou seja, apresenta estômatos em ambas as faces, porém, com maior quantidade na face adaxial. Já as espécies *C. citratus*, *C. flexuosus* e *C. winterianus* foram classificadas como anfi-hipoestomáticas, com estômatos em ambas as faces, porém, com maior quantidade na face abaxial (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GERREIRO, 2006). Todas as espécies em estudo exibiram estômatos em forma de halteres, dispostos em fileiras, ao longo das nervuras, característica típica de gramíneas (HEPWORTH et al., 2018; RAJAGOPAL; RAMAYYA, 1977). Acredita-se que esse formato de halteres representa uma forma mais evoluída dos estômatos, visto que permite grandes aberturas e maximiza o potencial destes em detectar mudanças nas condições ambientais, provavelmente com baixo custo energético, aumentando a fotossíntese e a eficiência no uso da água em comparação com outras espécies (HETHERINGTON; WOODWARD, 2003).

Quanto ao tamanho dos estômatos, estudos com plantas do gênero *Urochloa* (Poaceae) demonstraram que o tamanho dos estômatos entre as cultivares estudadas foi discrepante, havendo variação de até três vezes o tamanho de uma cultivar para outra (RIBEIRO-JÚNIOR et al., 2017). Esta variação também foi observada nas espécies estudadas de *Cymbopogon*, sendo que *C. citratus* e *C. distans* possuem estômatos significativamente maiores do que quando comparado a *C. flexuosus* e *C. winterianus*.

As Liliopsidas costumam apresentar feixes vasculares de três tamanhos distintos, podendo ser denominada de feixe de primeira, segunda e terceira ordem (ARRIAGA, 1998). Os feixes de primeira ordem apresentam elementos de metaxilema e lacunas de protoxilema, os de segunda ordem apresentam um ou dois elementos de metaxilema e os de terceira ordem apresentam elementos de metaxilema pouco visíveis (PELEGRIN; LONGHI-WAGNER; OLIVEIRA, 2009). Em *C. distans*, entre os

feixes vasculares de primeira ordem foram encontrados um feixe de segunda ordem e dois de terceira ordem (intercalados). Em *C. citratus*, *C. flexuosus* e *C. winterianus* o número de feixes vasculares de segunda e terceira ordem entre os feixes de primeira ordem foram variáveis (entre quatro e nove) e intercalados.

As quatro espécies em estudo apresentaram anatomia Kranz. Nesse tipo de anatomia as células do parênquima clorofiliano envolvem radialmente os feixes vasculares e internamente encontra-se a bainha parenquimática do feixe vascular. Dentro da anatomia Kranz estas duas estruturas são bem definidas, tornando esta característica um critério comum para identificação plantas C4 (HABERLANDT, 1914; KENNEDY, 1976; KIM et al., 2000). As espécies que apresentam anatomia Kranz realizam a fotossíntese C4, o que as tornam mais eficientes sob condições de estresse, principalmente quando expostas a altas temperaturas. Essa estrutura apresenta alternativa para suprir a deficiência de CO₂ que ocorre na via C3, como a fotorrespiração (RODRIGUES; ESTELITA, 2003; ZHANG et al., 2017). Ou seja, no mecanismo evolutivo das plantas C4, a fotossíntese se tornou um processo onde ocorre a colaboração entre as células do mesofilo e da bainha do feixe, evitando a fotorrespiração. O CO₂ é transferido do mesofilo para a bainha do feixe concentrando-o onde se encontra a enzima RUBISCO (DAL'MOLIN et al., 2018).

Nas espécies em estudo, foi identificado a presença de grande quantidade de esclerênquima envolvendo os feixes vasculares, podendo até interromper a bainha do feixe na face abaxial. Em algumas espécies, como *C. flexuosus* e *C. winterianus*, este acúmulo de esclerênquima foi mais proeminente, formando um tecido maciço ao redor do feixe vascular, servindo como sustentação para as folhas, devido ao seu tamanho, podendo estas espécies serem utilizadas como fonte de fibras, além do óleo essencial (BRITO; RODELLA, 2002; SILVA; ALQUINI, 2003; SOENARKO, 1977). Este aspecto de proeminência das fibras na face abaxial foi observado no presente estudo em ambas as espécies citadas, dando aspecto ondular à face abaxial do limbo foliar.

Todas as espécies do gênero *Cymbopogon* apresentam a nervura principal proeminente, contendo apenas um feixe vascular de primeira ordem, exceto em *C. flexuosus*, *Cymbopogon afronardus* Stapf. e *Cymbopogon coloratus* Stapf., que apresentam três feixes vasculares de primeira ordem na nervura principal (SOENARKO, 1977). Este aspecto foi observado nas espécies em estudo, no qual *C. flexuosus* foi a única espécie com três feixes vasculares de primeira ordem na nervura principal, podendo esta característica ser utilizada para identificação desta espécie.

Na face adaxial das quatro espécies em estudo observou-se células buliformes. Estas células são volumosas, de contorno quadrangular, parede fina e estão relacionadas tanto com a expansão foliar a partir da gema, quanto com o enrolamento da folha, quando a planta está exposta a déficit hídrico. Nesta situação as células perdem o turgor e se contraem, fazendo com que a lâmina foliar se dobre ou enrole (ALVAREZ; ROCHA; MACHADO, 2008; GRIGORE; TOMA, 2017). Esse tipo de células já foi descrito em estudos anatômicos de *C. citratus* e é comum em Liliopsidas, podendo ser encontradas em *Brachiaria* spp., *Axonopus* spp., *Paspalum* spp., *Digitaria* spp., *Panicum* spp., *Urochloa* spp., *Loudetiopsis chrysothrix* e *Tristachya leiostachya*, entre outros (RIBEIRO-JÚNIOR et al., 2017; TOTTI; VENCOVSKY; BATISTA, 2001).

Para a distinção entre as quatro espécies avaliadas, pode-se utilizar algumas características que foram mais marcantes. A espécie *C. distans* demonstrou morfologia diferenciada das demais, com altura de planta e tamanho de folhas bem menores do que as demais. Também apresentou estômatos principalmente na face adaxial das folhas e grande quantidade de tricomas glandulares. A espécie *C. flexuosus* se destacou pela elevada altura de planta e presença de três feixes vasculares de primeira ordem na nervura principal. Em *C. citratus* observou-se que o acúmulo de esclerênquima não se torna proeminente como nas demais espécies, já *C. winterianus* apresentou característica morfológica como largura de folha superior as demais.

A análise de agrupamentos envolve várias técnicas e algoritmos, com objetivo de descobrir grupos a partir das variáveis avaliadas, sendo esta uma importante técnica exploratória (ARRIAGA, 1998). Observou-se que as espécies que apresentaram maior similaridade foram *C. citratus* e *C. winterianus*, enquanto *C. distans* apresentou maior distância entre as espécies estudadas. Isto demonstrou que *C. distans* é visualmente a mais fácil de distinguir das demais, tornando mais difícil e detalhada a diferenciação entre *C. citratus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus*.

Os resultados obtidos neste estudo são de grande importância para diferenciação das espécies, visto que muitas vezes ocorre identificações incorretas, o que acarreta em uso inadequado tanto na medicina popular, quanto em estudos de pesquisa. Estas características também são de importância para utilização em programas de melhoramento vegetal, conhecendo-se as estruturas envolvidas na

produção, seu arranjo e localização e assim, buscar a maior produtividade de metabólitos de interesse, como o citral.

3.5. Conclusão

Os caracteres morfo-anatômicos das quatro espécies do gênero *Cymbopogon* contribuem na identificação dessas espécies, diferenciando-as entre elas e de outras do gênero, e contribuem com informações taxonômicas do gênero.

A espécie *C. distans* é diferenciada das demais espécies pela menor altura de planta, menor comprimento e largura de folha e menor comprimento do colmo e pela localização da maior parte dos estômatos na face adaxial do limbo foliar.

A característica de maior destaque para diferenciar *C. flexuosus* é a existência de três feixes vasculares de primeira ordem na nervura principal. Para *C. winterianus* as características marcantes são comprimento de colmo e largura de folha superiores as demais espécies estudadas.

Morfologicamente a espécie *C. citratus* possui muitas características em comum com *C. flexuosus* e *C. winterianus*, porém, diferencia-se anatomicamente por não apresentar a proeminência do esclerênquima que envolve os feixes vasculares.

4. Capítulo 2 - Perfil químico de infusões de *Cymbopogon citratus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus* revela diferenças nas propriedades medicinais deste gênero de plantas

4.1. Introdução

Infusões de plantas são uma das bebidas antigas mais utilizadas no mundo, sendo a segunda mais consumida, logo após a água (FRASER et al., 2013). Diferentes tipos de chás podem atuar efetivamente como antioxidantes devido à sua capacidade de eliminação de radicais livres e metais quelantes (SHARMA; RAO, 2009). Os antioxidantes naturais, como os polifenóis contidos no chá verde, atraem atenção considerável para a prevenção de doenças cancerígenas, cardiovasculares e degenerativas (CHEN et al., 2002; OGURA et al., 2008). A produção global de chá em 2016 foi de 5,9 milhões de toneladas, onde a China lidera com 40% da produção total, seguida pela Índia (21%), Quênia (8%), Sri Lanka (6%), Turquia (4%), Vietnã (4%) e Indonésia (2%) (FAOSTAT, 2018).

O gênero *Cymbopogon* compreende cerca de 140 espécies, subespécies, variedades e subvariedades, que podem ser encontradas na África, Índia, Austrália, América do Sul, Europa, América do Norte e Sul da Ásia (AKHILA, 2010; WANY et al., 2013). Embora exista uma grande variação dentro do gênero, a maioria dos estudos concentram-se em *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, por se tratar da espécie mais cultivada no mundo, devido a sua ampla utilização como planta medicinal (COSTA et al., 2016a; FIGUEIRINHA et al., 2008; TAVARES et al., 2015). Em particular, estudos descrevendo a composição do óleo essencial dessa espécie, são considerados altamente valiosos (SHAH et al., 2011).

Alguns estudos sobre compostos não voláteis também foram desenvolvidos em *C. citratus* (CHEEL et al., 2005; COSTA et al., 2015; FIGUEIRINHA et al., 2008; RORIZ et al., 2014; TAVARES et al., 2015). No entanto, outras espécies deste gênero ainda carecem de estudos de caracterização fitoquímica que possam indicar potenciais aplicações.

Entre as diferentes ervas usadas para infusões, há o capim-limão (*Cymbopogon* spp.), uma gramínea amplamente consumida como bebida e suas folhas frescas e secas também são utilizadas na culinária tradicional. (FIGUEIRINHA

et al., 2010). Esta planta tem mostrado diferentes propriedades quando aplicada à dieta humana, incluindo a atividade de eliminação de óxido nítrico (NO) e a inibição da expressão da enzima ÓXIDO NÍTRICO SINTASE INDUZÍVEL (iNOS), sugerindo potencial uso para o tratamento de doenças inflamatórias (FIGUEIRINHA et al., 2010).

A caracterização química de *Cymbopogon* demonstra um perfil rico de componentes do metabolismo especializado que podem ter sua concentração alterada de acordo com o método de preparo das infusões (FIGUEIRINHA et al., 2008; GODWIN et al., 2014). Além disso, o genótipo, as condições edafoclimáticas e o manejo da cultura também influenciam a composição das plantas (CHAE et al., 2014; PICHERSKY; LEWINSOHN, 2011).

Este estudo teve como objetivo avaliar os perfis químicos de infusões obtidas de diferentes espécies de *Cymbopogon* destacando quais compostos diferenciam uma espécie da outra de acordo com sua composição.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Material Vegetal

O cultivo foi realizado em um canteiro no município Capão do Leão, RS, Brasil (31 ° 48 'S, 52 ° 24' O, altitude: 14 m) em 2016 (os dados sobre as condições climáticas durante este ano podem ser encontrados no Apêndice A). A região possui clima subtropical úmido (Cfa) e solo classificado como Argissolo vermelho amarelo distrófico (ALVARES et al., 2014; SANTOS et al., 2014).

As espécies utilizadas no estudo foram: *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Nº PEL 26.973), *Cymbopogon flexuosus* Stapf (Nº PEL 26.972) e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (Nº PEL 26.955) Cada uma das espécies foi cultivada em três repetições em delineamento inteiramente casualizado, com uma planta por repetição.

4.2.2. Preparo das amostras

As folhas saudáveis e intactas de cada repetição foram coletadas quando as plantas estavam no crescimento vegetativo máximo, antes da floração, congeladas em nitrogênio líquido e mantidas a -80°C até a avaliação. Pequenas frações de folhas

de cada réplica foram mecanicamente desintegradas em moinho de bolas (Marconi, MA 350) utilizando nitrogênio líquido. A preparação das amostras foi realizada de acordo com o método proposto por Fraser et al. (2013), no qual após a maceração, pesaram-se 0,5 g de folhas moídas, acondicionadas em tubos de 15 mL e adicionado 5 mL de água ultrapura. Os tubos foram fechados, agitados e colocados em banho-maria a 80 ° C por um período de cinco minutos. As amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 11.000xg e o sobrenadante foi recolhido e transferido para frascos de 1,5 ml.

4.2.3. HPLC-UV-Q-ToF-MS – Condições de processamento

O perfil químico foi analisado em um cromatógrafo à líquido Ultra Fast (Shimadzu™, Kyoto, Japão), acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Bruker Daltonics™, Bremen, Alemanha). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Bidentate C18 (100 mm x 2,1 mm) (MicroSolv Technology Corporation™, Leland, NC, EUA). As fases móveis foram 0,1% de ácido fórmico aquoso (pH 2,8, solvente A) e acetonitrilo (solvente B). O programa de gradiente foi definido da seguinte forma: iniciou-se a 5% B, aumentando linearmente para 90% B em 15 min e manteve-se durante 3 min a 90% B; retornou 5% B em 2 minutos e manteve-se a 5% B por mais 6 minutos a uma taxa de fluxo de 0,2 mL min⁻¹. O volume de injeção foi de 10 µL. Todas as amostras foram injetadas em duplicatas.

O espectrômetro de massa (ESI) foi operado em modo negativo com espectros adquiridos em uma faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros de aquisição foram: voltagem do capilar 3,5 kV, pressão do gás nebulizador 2 bar, fluxo de gás de secagem 8 L min⁻¹, temperatura da fonte de 180 ° C, colisão de RF de 300 Vpp, tempo de transferência 120 µs e armazenamento pré-penetração 8 µs. A intensidade de energia de colisão foi ajustada para experimentos MS/MS automáticos de acordo com as razões m/z : m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV, utilizando nitrogênio como gás de colisão.

4.2.4. HPLC-Q-ToF-MS – Análise dos Dados

Os dados de MS foram processados utilizando o software DataAnalysis 4.0 (Bruker Daltonics TM, Bremen, Alemanha). O programa computacional ProfileAnalysisTM (versão 2.0, Bruker Daltonics TM, Bremen, Alemanha) também foi utilizado para processamento de dados e alinhamento de picos. Em cada análise, a normalização foi realizada pela adição da área total e pelo escalonamento de Pareto. Análise de componentes principais (ACP), agrupamento hierárquico e métodos estatísticos multivariados de análise discriminante de mínimos quadrados parciais supervisionados (PLS-DA) foram utilizados após uma análise de variância (ANOVA, $p \leq 0,05$). O teste de Tukey ($p \leq 0,05$) foi aplicado para comparar médias de compostos predominantes entre espécies de plantas.

A identificação dos compostos foi realizada combinando os valores m/z precisos e padrões de fragmentação MSⁿ com informações de bancos de dados (METLIN, compostos KEGG, PubChem, Mass Bank, Maven, FooDB e ReSpect) e literatura de referência com uma amplitude de precisão de massa de 5 ppm.

4.2.5. Análise da via metabólica

As vias metabólicas foram pesquisadas na plataforma KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/>) e as vias de biossíntese de ácido cítrico (mapa 00020), fenilpropanoides (mapa 01061), flavonoides (mapa 00941) e flavona/flavonol (mapa 00944) foram utilizados para projetar um esquema simplificado destacando as principais enzimas que provavelmente são reguladas diferencialmente ao comparar esses genótipos.

4.3. Resultados

4.3.1. Perfil químico das infusões de *Cymbopogon*

Vinte e dois compostos foram encontrados nas espécies avaliadas (Tabela 1). Destes, 21 compostos foram identificados em *C. citratus*, 10 em *C. flexuosus* e 15 em *C. winterianus*. Os compostos identificados apenas em *C. citratus* foram 2-O-

cafeoylglycerol, (S)-(+)-1-(p-hidroxi-trans-cinamoil)-glicerol, ácido *p*-coumarico, N-acetil-D-manosamina, luteolina 7-O-neohesperosil e X"-O-rhamnosil C-(6-deoxipentohexosulosil) luteolina. O derivado de flavona 2"-O-rhamnosil-C-hexosil apigenina foi identificado somente em *C. winterianus*, ácido oxodecenóico foi identificado em *C. citratus* e *C. flexuosus*, enquanto que ácido feruloylquinico, luteolina 6-C-hexosil-8-C-pentosil, 2"-O-rhamnosil isoorientina, luteolina 6-C-pentosil 8-C-pentosil e luteolina 2"-O-deoxihexosil-C-pentosil foram identificados em *C. citratus* e *C. winterianus* (Tabela 1).

C. flexuosus não apresentou alta intensidade de nenhum composto específico quando comparado às demais espécies de *Cymbopogon* deste estudo. Diferente das demais, *C. flexuosus* não apresenta quantidades sensíveis de ácido feruloylquinico ([M-H]⁻ *m/z* 367.1000), Luteolina 6-C-hexosil-8-C-pentosil ([M-H]⁻ *m/z* 579.1374), 2"-O-rhamnosyl isoorientin ([M-H]⁻ *m/z* 593.1517), Luteolina 6-C-pentosil-8-C-pentosil ([M-H]⁻ *m/z* 549.1261) ou 2"-O-deoxihexosil-C-pentosil luteolina ([M-H]⁻ *m/z* 563.1412) (Tabela 1).

Compostos identificados por [M-H]⁻ *m/z* 351.1290 (não identificado), [M-H]⁻ *m/z* 563.1416 (Apigenina 6-C-pentosil-8-C-hexosil), e [M-H]⁻ *m/z* 593.1517 (2"-O-rhamnosil isoorientina) foram encontrados em maior concentração em *C. winterianus* e foram agrupados na análise de agrupamento hierárquico (Figura 1 C).

Os íons encontrados em concentrações mais altas em todas as três espécies foram [M-H]⁻ *m/z* 377.0800 (sacarose), [M-H]⁻ *m/z* 191.0203 (ácido cítrico), [M-H]⁻ *m/z* 129.0190 (Ácido trans-aconítico) e [M-H]⁻ *m/z* 173.0090 (com fragmentos de íon [M-H]⁻ *m/z* 85 e [M-H]⁻ *m/z* 157). Observou-se ainda, que existiu uma diferença notável na composição química dos extratos obtidos a partir destas três espécies de *Cymbopogon*, demonstrando que variações genéticas dentro deste gênero podem resultar em modificações de interesse farmacêutico.

Tabela 2 - Compostos encontrados em infusões de *C. citratus*, *C. winterianus* e *C. flexuosus*.

Pico	Compostos	TR	λ_{max} (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	Espécies			MS ² (m/z)	Energia de colisão (eV)
					<i>C. cit</i>	<i>C. win</i>	<i>C. fle</i>		
1	Sacarose	1.8	269	377	+	+	+	89 (100) 101 (44) 113 (52) 119 (51) 179 (37)	28,9
2	Ácido cítrico	1.9	265	191	+	+	+	85 (46) 87 (19) 111 (100) 129 (31)	19,6
3	Ácido oxodecenóico	1.9	265	182	+	-	+	97 (42) 139 (100)	19,1
4	Ácido fumárico	1.9	265	115	+	+	+	-	15,8
5	Ácido málico	2	266	133	+	+	+	71 (8) 72 (6) 89 (14) 115 (100)	16,7
6	Ácido trans-Aconítico	3.2	222	129	+	+	+	85 (100) 129 (12)	16,5
7	Ácido cafeoilquínico	7.7	325	353	+	+	+	191 (100)	27,7
8	Ácido feruloylquinico	7.7	325	367	+	+	-	193 (100) 134 (77)	28,4
9	Ácido quínico	7.7	324	191	+	+	+	85 (27) 93 (13) 191 (100)	19,6
10	2-O-cafeoilglicerol	8.6	210, 324	253	+	-	-	135 (37) 161 (100) 162 (6) 179 (14)	22,7
11	Luteolina 6-C-hexosil-8-C-pentosil	9.1	210	579	+	+	-	369 (73) 399 (100) 429 (23) 459 (49) 489 (71)	37,4
12	(S)-(+)-1-(p-hidroxi-trans-cinamoil)-glicerol	9.6	270, 345	237	+	-	-	119 (39) 145 (100) 163 (9)	21,9
13	Apigenina de 6-C-pentosil-8-C-hexosil	9.6	273, 323	563	+	+	+	353 (89) 383 (67) 443 (38) 473 (46) 503 (26) 545 (11)	36,9
14	2"-O-rhamnosil isoorientina	9.8	272, 319	593	+	+	-	309 (27) 327 (26) 357 (27) 429 (22) 473 (100)	37,8
15	6-C-hexosil-luteolina	9.8	271, 329	447	+	+	+	327 (100) 357 (86) 429 (5)	32,4
16	Ácido p-coumarico	9.9	272, 319	163	+	-	-	119 (100)	18,2
17	N-acetil-D-manosamina	10	273	119	+	-	-	119 (100)	16
18	Luteolina 6-C-pentosil-8-C-pentosil	10	273	549	+	+	-	369 (63) 399 (78) 429 (26) 459 (100) 489 (28) 531 (5)	36,5
19	2"-O-rhamnosil-C-hexosil apigenina	10,5	335	577	-	+	-	293 (100) 311 (32) 341 (27) 413 (68) 457 (26)	37,3
20	Luteolina 7-O-neohesperosil	10,8	342	593	+	-	-	285 (43) 447 (6)	37,8
21	Luteolina 2"-O-deoxihexosil-C-pentosil	11,1	340	563	+	+	+	298 (33) 327 (20) 357 (31) 399 (51) 417 (13) 473 (100)	36,9
22	X"-O-rhamnosil C-(6-deoxi-pento-hexosulosil) luteolina	11,7	210, 347	575	+	-	-	325 (100) 367 (76) 385 (36) 411 (66) 429 (47) 531 (10)	37,3

*TR: tempo de retenção; *C.cit.*: *C. citratus*; *C.win.*: *C. winterianus*; *C.fle.*: *C. flexuosus*. Valores entre parênteses correspondem à intensidade da fragmentação.

A análise de CPs destacou as diferenças entre essas espécies. Os dois primeiros componentes principais juntos representam 100% da variação, onde CP1 respondeu por 81,9% (Figura 1 A). A projeção de importância das variáveis (VIP) >1.0 foi utilizada para determinar quais compostos contribuíram para o agrupamento por espécies. Dos 35 íons com maior intensidade, a diferença mais importante entre as espécies foi aquela com [M-H]⁻ *m/z* 217.0339 (com fragmentos de íons [M-H]⁻ *m/z* 83.0511, [M-H]⁻ *m/z* 111.0451, [M-H]⁻ *m/z* 115.0399, [M-H]⁻ *m/z* 127.0397, [M-H]⁻ *m/z* 155.0353 e [M-H]⁻ *m/z* 199.0232, com provável fórmula molecular C₈H₉O₇), que foi encontrado em maior concentração em *C. citratus* (Figura 1 B; Figura 1 C).

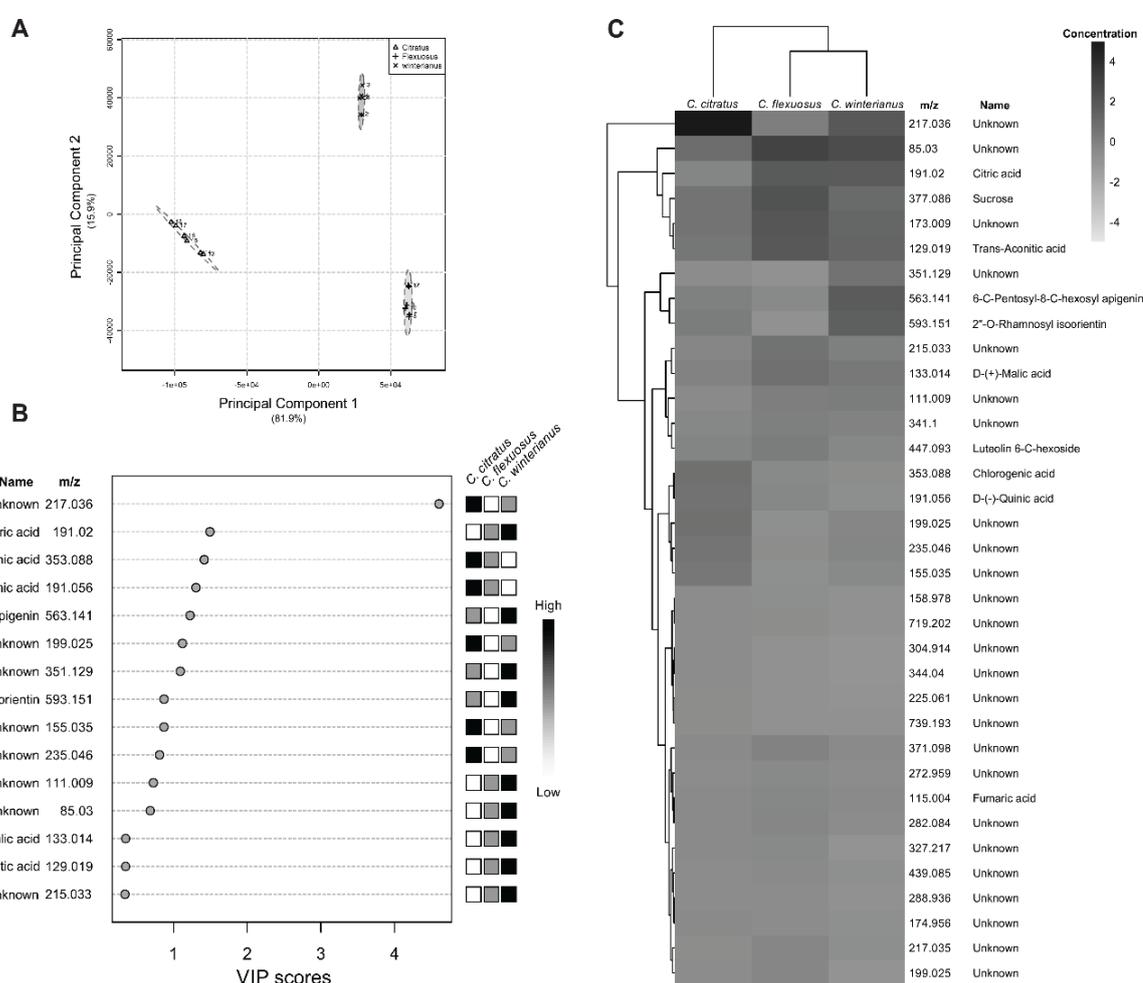


Figura 1 - Perfil químico de *Cymbopogon* spp. (A). Análise de componentes principais de espécies de *Cymbopogon* baseada em seus constituintes. (B). Importância da Variável em projeção (VIP), gráfico da análise discriminante de mínimos quadrados parciais iniciais (PLS-DA) derivada de dados LCMS. (C). Grupamento hierárquico de três espécies de *Cymbopogon*, com base em dados de metabolômica não segmentados (35 compostos).

Outro grupo de compostos que contribuiu para a diferenciação entre as espécies foi composto pelos íons [M-H]⁻ *m/z* 85.0300, [M-H]⁻ *m/z* 191.0203, [M-H]⁻ *m/z* 377.0800, [M-H]⁻ *m/z* 173.0090 e [M-H]⁻ *m/z* 129.0190 (Figura 1 C), sendo três deles identificados como ácido cítrico, sacarose, e ácido trans-aconítico (Tabela 1). Os compostos deste grupo estiveram presentes em maiores concentrações em *C. winterianus* e *C. flexuosus*.

Os cromatogramas mostraram o tempo de retenção (RT) e a intensidade de cada um dos compostos nas três espécies de *Cymbopogon* (Figura 2 A e Apêndice E). Foi possível observar que *C. citratus* apresentou um padrão muito diferente dos demais, mostrando um grande pico a 2,5 minutos, outro iniciando logo após os 7,5 minutos e outro após 11 minutos. Este último pico foi encontrado apenas em *C. citratus*. *C. flexuosus* e *C. winterianus* que apresentaram cromatogramas semelhantes, mas os picos de *C. flexuosus* foram de menor intensidade.

4.3.2. Compostos desconhecidos

Dos 35 íons de maior intensidade avaliados neste estudo, apenas 10 foram identificados, enquanto 25 não puderam ser encontrados em bancos de dados públicos. Entre os não identificados, estão aqueles presentes em maior intensidade, como o [M-H]⁻ *m/z* 217.0360 e [M-H]⁻ *m/z* 85.0300 (Figura 2 B). Outro íon de intensidade expressiva em todas as espécies que não pode ser identificado foi [M-H]⁻ *m/z* 173.0090. Todos esses íons são considerados importantes para a diferenciação das espécies e devido à sua alta intensidade, estes merecem atenção para novos estudos.

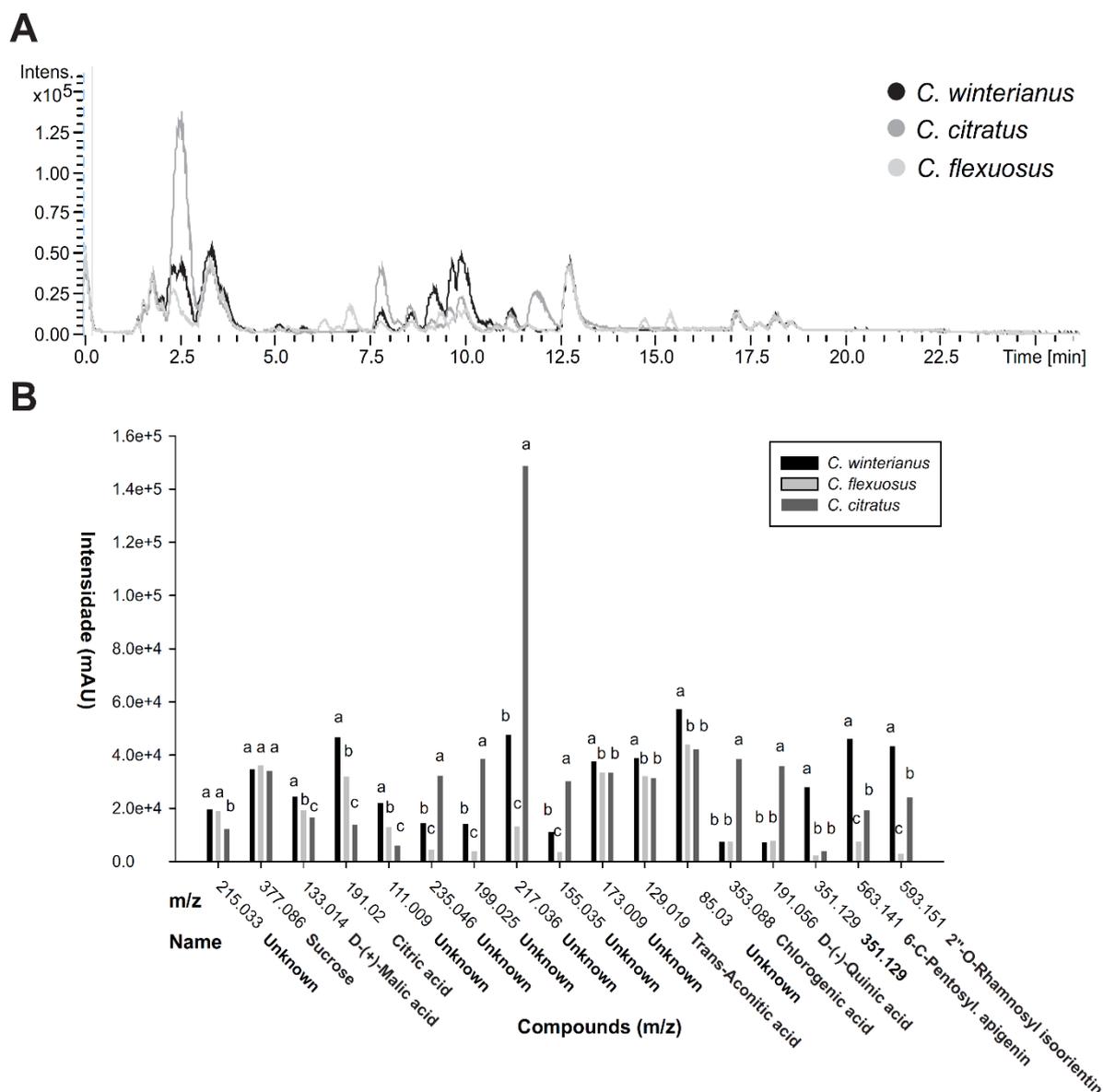


Figura 2 - Identificação e concentrações de compostos encontrados em plantas do gênero *Cymbopogon*. (A). Cromatogramas de íons típicos obtidos por HPLC a partir de infusões de *Cymbopogon*. Os dados de cada espécie podem ser visualizados separadamente no Apêndice D. (B). Intensidade dos principais compostos encontrados em três espécies de *Cymbopogon*. Unknown: não identificado.

4.3.3. Vias metabólicas

As flavonas possuem duas vias de síntese, uma conhecida como via do ácido chiquímico e outra como via do acetato malonato (Figura 3). Ambas as vias geram o *p*-coumaril-CoA, precursor das flavanas e flavonóis, onde são formadas as luteolinas

e apigeninas. Diversas enzimas estão envolvidas na síntese desses compostos, sendo que cada espécie possui ação diferenciada das mesmas.

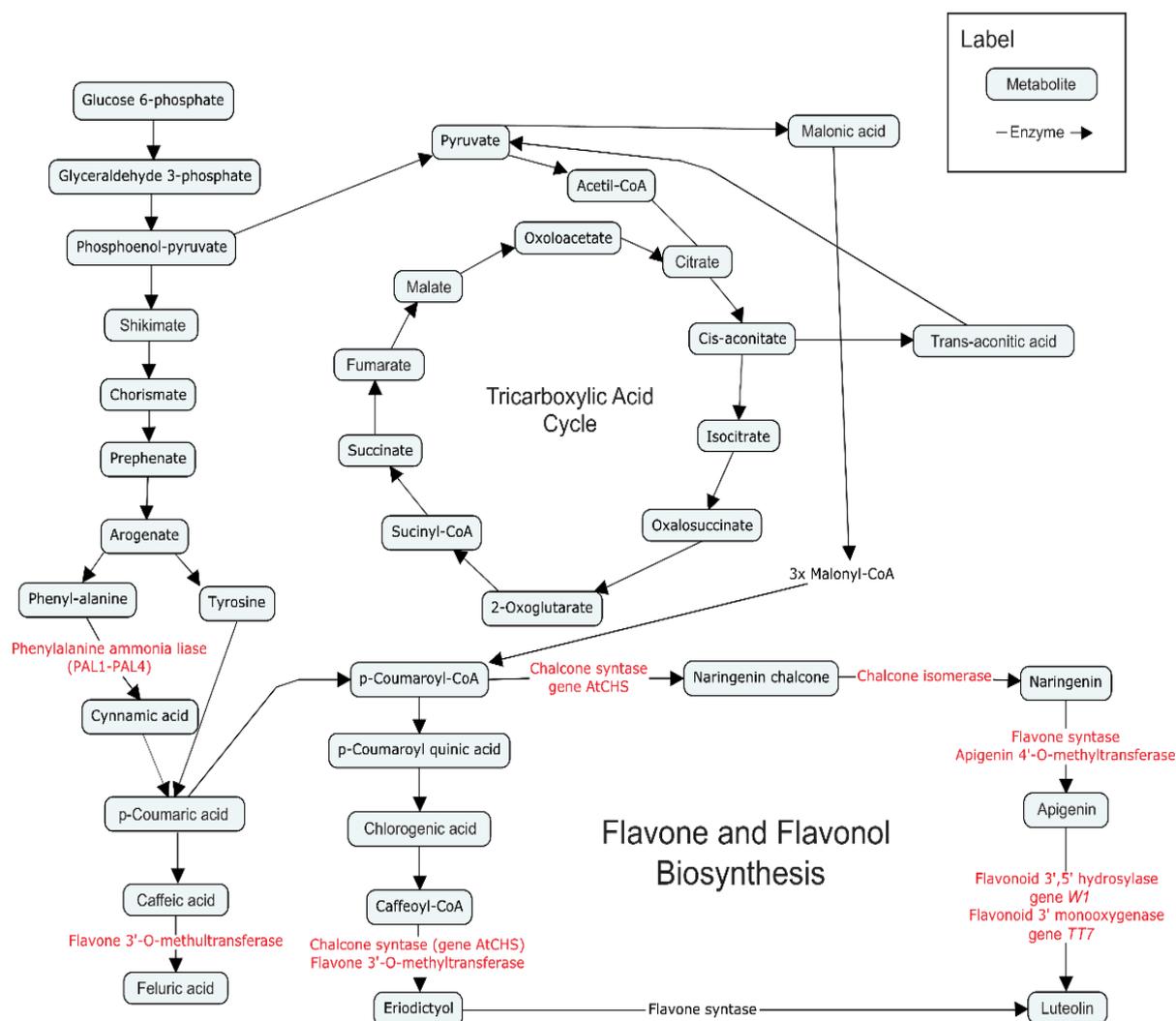


Figura 3 - Rotas metabólicas envolvidas na síntese e degradação dos principais compostos do metabolismo especializado das espécies de *Cymbopogon* em estudo. Os genes mais relevantes que devem estar envolvidos nas diferenças entre genótipos estão entre os compostos. Adaptados dos mapas do Kegg números: 00020, 01061, 00941 e 00944.

4.4. Discussão

Alguns componentes químicos encontrados são característicos de determinadas espécies, e podem ser usados como parâmetros para identificação e caracterização ecológica destas espécies (HUBINGER; SALGADO; MOREIRA, 2009). Os componentes encontrados neste estudo pertencem a diferentes classes,

especialmente açúcares, ácidos orgânicos, flavonas, ácidos graxos e derivados do ácido hidroxicinâmico (Tabela 1).

Em estudo de caracterização de flavonoides presentes em *C. citratus*, foram encontrados sete compostos compatíveis com aqueles aqui encontrados (Tabela 1) (FIGUEIRINHA et al., 2008). Em uma pesquisa semelhante com a mesma espécie, 10 compostos semelhantes aos picos 7, 8, 11, 13, 14, 15, 18, 20, 21 e 22 (Tabela 1) também foram encontrados (COSTA et al., 2016; TAVARES et al., 2015).

A limitada ocorrência de metabólitos especializados na espécie *C. flexuosus* pode ser útil para a modificação de determinadas vias para produzir certos compostos em um processo semi-exclusivo, em que aqueles que são potencialmente tóxicos ou que dificultam os processos de purificação farmacêutica estarão quase ausentes.

Entre os compostos identificados, seis foram luteolinas (1, 15, 18, 20, 21 e 22 da Tabela 1), um grupo de flavonoides de grande diversidade, encontrados em várias espécies de plantas (Tabela 1). Estes produtos químicos são estáveis quando expostos ao calor, com perdas relativamente baixas durante o processo de cozimento (LIN et al., 2009). Plantas ricas em luteolina são amplamente utilizadas na medicina popular para hipertensão e doenças inflamatórias, possuindo propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antialérgicas e cardioprotetoras (CAMPOS et al., 2014; COSTA et al., 2016a; JOUNG et al., 2016; LIN et al., 2009; LÓPEZ-LÁZARO, 2009; ROY et al., 2015). Estes compostos diminuem a oxidação do colesterol LDL, diminuem o risco de aterosclerose e aumentam a expressão das enzimas antioxidantes como catalase e superóxido dismutase (ORREGO; LEIVA; CHEEL, 2009). A apigenina e luteolina também reduzem a pressão arterial e os níveis de glicose no sangue, apresentando propriedades antitrombóticas e neuroprotetoras (LÓPEZ-LÁZARO, 2009). A espécie que apresentou o maior número de luteolinas identificadas foi *C. citratus*. Em *C. flexuosus*, apenas uma luteolina (luteolina 6-Hexosil) e uma apigenina (6-C-Pentosil-8-C-hexosil apigenina) foram encontradas, mostrando que o consumo errado e indevido desta espécie pode não alcançar os benefícios esperados, devido à ausência de alguns compostos importantes.

O composto 2 "-O-ramnosil isoorientina que foi encontrado em *C. citratus* e *C. winterianus* possui efeitos antioxidantes, servindo como um potente neutralizador de ânion superóxido e apresentando potencial anti-inflamatório (ANILKUMAR et al., 2017; CHEEL et al., 2005).

Os flavonoides podem ser subdivididos em flavanonas, flavonois, flavonas (luteolinas e apigeninas), isoflavonas e antocianinas. Nas plantas, os flavonoides fornecem um mecanismo de proteção contra a radiação UV e estresse oxidativo, interferem nas interações entre espécies (simbiose, resistência a agentes patogênicos, proteção contra herbívoros e alelopatia) e atuam na lignificação (JIANG; DOSEFF; GROTEWOLD, 2016).

Compostos fenólicos são parte de um grupo muito diversificado de metabolitos secundários que a biossíntese ocorre através do ácido chiquímico e das vias de malonato/acetato (Figura 3). A via do ácido chiquímico origina os aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina, que são precursores dos fenilpropanoides (SAITO et al., 2013). Tanto a via do ácido chiquímico como a via do acetato de malonato produzem *p*-coumaril-Coa, que é o composto precursor das flavonas (por exemplo, luteolinas, apigeninas), um grupo de flavonoides de grande importância devido às suas propriedades antioxidantes. A síntese destes compostos está associada com CHALCONE FLAVANONE ISOMERASE (CHI), CHALCONE SINTASE (CHS), e a conversão de apigenina em luteolina está ligada à ação de FLAVONOIDE 3', 5' HIDROXILASE (*OsW1*) e FLAVONOIDE 3'-HIDROXILASE (*AtTT7*) (Figura 3). Os compostos derivados dessas vias foram encontrados em maiores concentrações em *C. citratus* e *C. winterianus*, que são alvos potenciais para a engenharia metabólica com o objetivo de intensificar a produção de flavonoides nas espécies em estudo. Algumas enzimas envolvidas na síntese de luteolinas e apigeninas são FLAVONE SINTASE, FLAVONOIDE 3'-MONOOXIGENASE, associadas com o gene *TT7*, FLAVANOIDE 3', 5'-HIDROXILASE, associada ao gene *W1* (Oxidorrredutases), FLAVONE 3'-O-METILTRANSFERASE, FLAVONE 7-O-BETA-GLUCOSILTRANSFERASE e LUTEOLINA 7-O-GLUCURONOSILTRANSFERASE (Transferases) (MARTENS et al., 2003; MUZAC et al., 2000; SCHULZ; WEISSENBOCK, 1988; SHIMADA et al., 1999).

Outros compostos presentes nas plantas podem ter o papel de proteger os constituintes ativos de alterações, como a oxidação e a hidrólise, ou ainda permitir melhor absorção pelo organismo, facilitando a passagem através de membranas ou inibindo sistemas enzimáticos que podem prejudicar esse processo. Neste grupo, os ácidos orgânicos, como malato, citrato e ácidos fenólicos, são responsáveis por inumeros efeitos farmacológicos. Entre os ácidos fenólicos estão clorogênico,

cumárico e fumárico (Tabela 1), que podem ter ação hepatoprotetora, antioxidante, analgésica e espasmolítica (ABRANCHES, 2015; GHASEMZADEH; GHASEMZADEH, 2011; OLTHOF; HOLLMAN; KATAN, 2001). O ácido *p*-coumarico, que atua como anti-inflamatório e antioxidante, também possui atividade antibacteriana, danificando as membranas celulares bacterianas e interagindo com seu DNA (LOU et al., 2012).

4.5. Conclusão

Existe diferença no perfil químico das três espécies de *Cymbopogon* avaliadas, o que permitiu a identificação de vários compostos bioativos incluindo ácido clorogênico e o ácido quínico predominantes em *C. citratus*, 6-C-pentosil-8-C-hexosil apigenina e 2"-O-Rhamnosyl isoorientina em *C. winterianus* e um número limitado de compostos em *C. flexuosus*. Outros compostos foram observados, mas suas identificações não foram determinadas.

5. Capítulo 3: Perfil químico do óleo essencial de *Cymbopogon*: diferenças entre espécies e identificação de compostos voláteis alvo para engenharia metabólica

5.1. Introdução

Óleo essencial (OE) é uma substância que apresenta características físico-químicas de solubilizar-se em fase oleosa e contém a essência da espécie vegetal, podendo exercer funções na planta de autodefesa, atração de polinizadores e proteção contra perda de água e aumento da temperatura foliar (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007; WOLFFENBÜTTEL, 2010). Além destas qualidades, possuem várias propriedades biológicas, que compreende todas as atividades que essas misturas de compostos voláteis e não-voláteis. Diversos estudos vêm sendo realizados utilizando óleos essenciais para diferentes propósitos (ADUKWU et al., 2016; AVOSEH et al., 2015; BASER; BUCHBAUER, 2010; BOUKHATEM et al., 2014; EKPENYONG; AKPAN, 2017; FRANCO-VEGA et al., 2015; PINTO et al., 2015).

A maioria das espécies silvestres de *Cymbopogon* é utilizada localmente por pessoas nativas na forma de chá ou na medicina popular (SOENARKO, 1977). Na Argentina é utilizado para dor de garganta, enquanto no Brasil é usado como analgésico, anti-inflamatório, diurético e sedativo. Em Cuba é usado no controle do reumatismo, enquanto os extratos da raiz são utilizados para diabetes na Tailândia. No Egito, acredita-se que a planta fresca repele cobras, além de ser utilizado para cólera e como sedativo. No sul da Ásia e na Malásia o *C. citratus* é amplamente utilizado na culinária como um condimento (SHAH et al., 2011). Geralmente plantas desse gênero não servem como alimento para animais, devido ao sabor desagradável, quando consumidas sem processamento. Das 55 espécies existentes do gênero, somente cinco são cultivadas comercialmente (*C. citratus*, *C. flexuosus*, *C. martini*, *C. winterianus* e *C. nardus*) (SOENARKO, 1977).

Na Índia, existem registros que remontam a mais de 2000 anos o uso medicinal do OE de erva-cidreira, contudo, a sua destilação começou a ser realizada somente em 1890. Atualmente o OE de erva-cidreira (*C. citratus* e *C. flexuosus*) é considerado um importante commodity comercial. O OE de citronela (*C. winterianus*) é considerado um dos 20 OEs mais importantes no comércio mundial, sendo que os Estados Unidos é o maior importador mundial, seguido da Europa, devido a presença da

mundialmente famosa indústria de perfumaria na França e Alemanha (AKHILA, 2010b).

O mercado mundial de OE movimentou mais de US\$ 6 bilhões em 2015, devido ao aumento do uso da aromaterapia, juntamente com a crescente demanda por fragrâncias e sabores para alimentos, bebidas e produtos de higiene pessoal. Os maiores produtores mundiais de OE são a Índia, China, Indonésia e Brasil. Além disso, espera-se que este mercado cresça ainda mais, principalmente em países em desenvolvimento, como China, Índia, Vietnã e Tailândia (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; GRAND VIEW RESEARCH, 2016).

Atualmente, a pesquisa referente aos recursos naturais está sendo reconhecida pela sua importância no desenvolvimento do uso sustentável da biodiversidade visando fornecer novas técnicas e fontes alternativas de renda para os agricultores (PINHEIRO et al., 2016).

Poucas espécies do gênero *Cymbopogon* são exploradas comercialmente e a maioria delas não é cultivada. No entanto, estudos recentes mostraram que a composição química de algumas dessas espécies pode ser de interesse comercial, com grande potencial de uso. Variedades de plantas aromáticas com desempenho superior facilitam o cultivo pelos agricultores, mantendo seu rendimento com maior qualidade, garantindo melhor homogeneidade do produto. Espécies domesticadas de *Cymbopogon* existentes são usadas comercialmente (AVOSEH et al., 2015; GANJEWALA, 2009; LAL, 2012; OMAR et al., 2016; SRINIVAS et al., 2017).

As plantas do gênero *Cymbopogon* são tradicionalmente utilizadas como chá, suplemento medicinal, repelente de insetos, inseticida ou com fins medicinais. Devido ao seu uso diversificado, as espécies deste gênero vêm sendo amplamente cultivadas em diferentes partes do mundo, especialmente nos trópicos e subtropicais, devido sua capacidade de crescer em condições climáticas moderadas e severas, produzindo alto teor de óleo essencial, o que contribui para seu alto valor comercial.

Os OEs do gênero *Cymbopogon* são constituídos principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos como citral, citronelol, citronelal, linalol, elemol, limoneno, geraniol, β -carofileno e acetato de geranilo (GANJEWALA, 2009; KHANUJA et al., 2005). O capim limão (*C. flexuosus* e *C. citratus*) tem uma produção anual de cerca de 300 toneladas, sendo cultivado em países da América do Sul e América central (Brasil, Argentina, Ilhas do Caribe, Guatemala, Honduras e Haiti) e Ásia (Índia, China, Sri Lanka, Java, Vietnã, Malásia, Bangladesh e Mianmar) (RAO, 2013; WANY

et al., 2013). A espécie *C. citratus* é amplamente distribuída, razão pela qual é bem estudada (AVOSEH et al., 2015; OMAR et al., 2016). A produção anual estimada de citronela (*C. winterianus*) é de cerca de 2 mil toneladas, sendo cultivada principalmente na Indonésia, Guatemala, Honduras, China, Índia, Haiti, Vietnã e Sri Lanka. Juntos, o OE de citronela e capim-limão estão entre os mais produzidos no mundo, juntamente com o óleo de laranja, hortelã-pimenta e eucalipto (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). O OE dessas espécies é amplamente utilizado como fonte de matéria-prima para perfumaria, cosméticos, indústria alimentícia e estudos recentes estão explorando seu uso pela indústria farmacêutica (WANY et al., 2013).

As variações temporais e espaciais no conteúdo total de metabolitos secundários em plantas ocorrem devido a alterações na expressão gênica e modificações resultantes da interação fisiológica, bioquímica e ecológica, moldada pelos processos evolutivos. Os metabolitos secundários representam uma conexão química entre plantas e o ambiente circundante, de modo que sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SCHWERZ et al., 2015).

Compreender a diversidade disponível no germoplasma deste gênero é um passo importante não só para o melhoramento, mas também para sua conservação (KUMAR et al., 2009). O objetivo deste estudo foi caracterizar a composição química dos OEs de espécies do gênero *Cymbopogon*, destacando quais compostos diferenciam uma espécie da outra, direcionando o potencial uso de cada espécie de acordo com sua composição. Além disso, buscou-se identificar genes / enzimas que devem ser mais estudados, a fim de obter novas informações sobre a produção de compostos úteis.

5.2. Material e métodos

5.2.1. Material vegetal

O cultivo foi realizado em canteiros localizados no município do Capão do Leão, Brasil (31° 48' S, 52° 24' O, altitude: 14 m) durante 2016/2017 (dados sobre as condições climáticas deste período podem ser encontrados no Apêndice A). A região possui clima subtropical húmido (Cfa) e solo classificado como argissolo vermelho amarelo distrófico (ALVARES et al., 2014; SANTOS et al., 2014).

As espécies utilizadas no estudo foram: *Cymbopogon winterianus* Jowitt (PEL Nº 26.973), *Cymbopogon flexuosus* Stapf (PEL Nº 26,972), *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (PEL Nº 26.955) e *Cymbopogon distans* (Nees ex Steud.) Will. Watson (PEL Nº 26.956) (Apêndices B e C). Cada uma das espécies foi cultivada em três repetições em delineamento inteiramente casualizado. A identificação das espécies foi realizada com base nas características morfológicas contidas na chave taxonômica do gênero (SOENARKO, 1977).

5.2.2. Extração do óleo essencial

O OE foi obtido a partir das folhas frescas por hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo Clevenger e separado da água por decantação. O tempo de extração foi de 4 horas (BRASIL, 2010). A quantidade de material vegetal de cada espécie utilizado em cada extração variou entre 300 e 400 g. Após a extração o OE foi transferido para um cilindro graduado e pesado, seguido pela determinação do rendimento como % (p/p) em peso fresco. As amostras foram transferidas para frascos de vidro âmbar e armazenadas a -4 °C até a análise química.

5.2.3. Análise cromatográfica

A identificação dos componentes químicos do OE (análise qualitativa) foi realizada por um cromatógrafo de gás Agilent 6890 acoplado a um detector seletivo de massa Agilent 5973 (GC / MS). A alíquota de 2 µL de OE foi diluída em 1 mL de hexano (grau HPLC). A análise foi realizada numa coluna capilar HP5-MS (Hewlett Packard, 5% de fenilo, 95% de metilsiloxano, 30 m x 0,25 mm, espessura da película: 0,25 µm) a 70 eV. Foram utilizadas as seguintes condições: divisão de fluxo 1:100; programa de temperatura: 40°C durante 4 min; 40 a 320°C a 4°C min⁻¹; gás transportador He; taxa de fluxo 1 mL min⁻¹; Temperatura do injetor e do detector: 250°C. Os componentes OE foram identificados pela comparação de seus índices de retenção, determinado por uma curva de calibração de n-alcanos injetados nas mesmas condições cromatográficas que as amostras e os padrões de fragmentação em massa descritos na literatura (ADAMS, 2009; NIST, 2010).

Os componentes do OE foram quantificados por cromatografia gasosa com detecção de ionização de chama (GC/FID) em um Agilent 7890A. Os parâmetros

utilizados para as análises foram: modo sem divisão; programa de temperatura: 40 °C durante 4 min; 40 a 320°C a 4°C min⁻¹; gás transportador He; taxa de fluxo 1 mL min⁻¹; Temperatura do injetor e do detector: 300°C. A porcentagem dos componentes químicos foi baseada na normalização da área de pico.

5.2.4. Análise das vias metabólicas

As vias metabólicas foram pesquisadas no Keeg (<http://www.genome.jp/kegg/>), sendo utilizadas as rotas de biossíntese do ácido cítrico (map 00020), biossíntese de terpenóides e esteróides (map 01062), Biossíntese da espinha dorsal dos terpenóides (map 00900), biossíntese dos monoterpénóide (map 00902), biossíntese dos sesquiterpenóides e triterpenóides (map 00909). As vias de degradação do geraniol (mapa 00281) também foram incluídas na análise. Os compostos de interesse foram identificados e a via simplificada foi desenhada para destacar as diferenças mais importantes detectadas neste estudo.

5.2.5. Análise estatística

Análise de componente principal (PCA), agrupamento hierárquico e análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) foram utilizados após uma análise de variância (ANOVA, $p \leq 0,05$). Foi utilizado um escore de importância variável (VIP) > 1.0 para selecionar as variáveis mais discriminantes. Para o teor de óleo essencial e as diferentes classes de compostos foi aplicado o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (CRUZ, 2013; XIA; WISHART, 2016).

5.3. Resultados

5.3.1. Teor de óleo essencial

As espécies de *Cymbopogon* apresentaram diferença no teor de OE presente nas folhas, sendo que a espécie *C. winterianus* é a que possui maior concentração de OE (0.93%), ou seja, produziu 0,93 kg de OE em 100 kg de folhas frescas, seguida da espécie *C. flexuosus* (0.56%, ou 0,56 kg de OE em 100 kg de folhas frescas). As espécies *C. citratus* e *C. distans* apresentaram as menores concentrações, não

diferindo estatisticamente entre si, com 0.44% e 0.36% respectivamente, ou 0,44 kg e 0,36 kg de OE em 100 kg de folhas frescas (Figura 1 A).

5.3.2. Perfil químico do óleo essencial

As espécies avaliadas apresentaram diferentes padrões de compostos presentes no OE (Figura 2B). A espécie *C. winterianus* foi a que exibiu o maior número de compostos identificados (16), e *C. distans* foi a que apresentou menor número de compostos identificados na amostra (5) (Tabela 1).

Em *C. winterianus*, os compostos predominantes foram o citronellal (31,8%), citronellol (9,9%), cis-geraniol (12,5%) e elemol (10,2%), apresentando um perfil de compostos bem diferenciado das demais espécies (Figura 1 B). Já *C. distans*, *C. flexuosus* e *C. citratus* apresentaram como compostos majoritários o β -Citral e α -Citral, com valores entre 26,0% -28,5% e 40,7% - 54,4%, respectivamente. A espécie *C. distans* apresentou maior concentração de citral, seguida de *C. flexuosus* (Tabela 1).

C. flexuosus apresentou em sua composição cis-chrysanthenol e β -Caryophyllene, que não foram encontrados nas demais espécies e alto teor de cis-verbenol (9,2%). *C. citratus* foi caracterizado por apresentar alta concentração de mirceno no seu OE (em torno de 17%). Na espécie *C. winterianus* observou-se os compostos elemol e β -Elemene em concentrações expressivas (10,2% e 4,5% respectivamente), sendo que estes não foram encontrados nas demais espécies (Tabela 1).

Grande parte dos compostos encontrados nestas espécies pertencem a classe dos monoterpenos oxigenados (60-90%), sendo que *C. flexuosus* foi a que apresentou a maior variedade de compostos desta classe. *C. citratus* demonstrou alta concentração de monoterpenos hidrocarbonetos, devido a presença do mirceno, enquanto *C. winterianus* apresentou vários compostos pertencentes as classes dos sesquiterpenos hidrocarbonetos e monoterpenos oxigenados, entre 11 e 13% respectivamente (Figura 1 C).

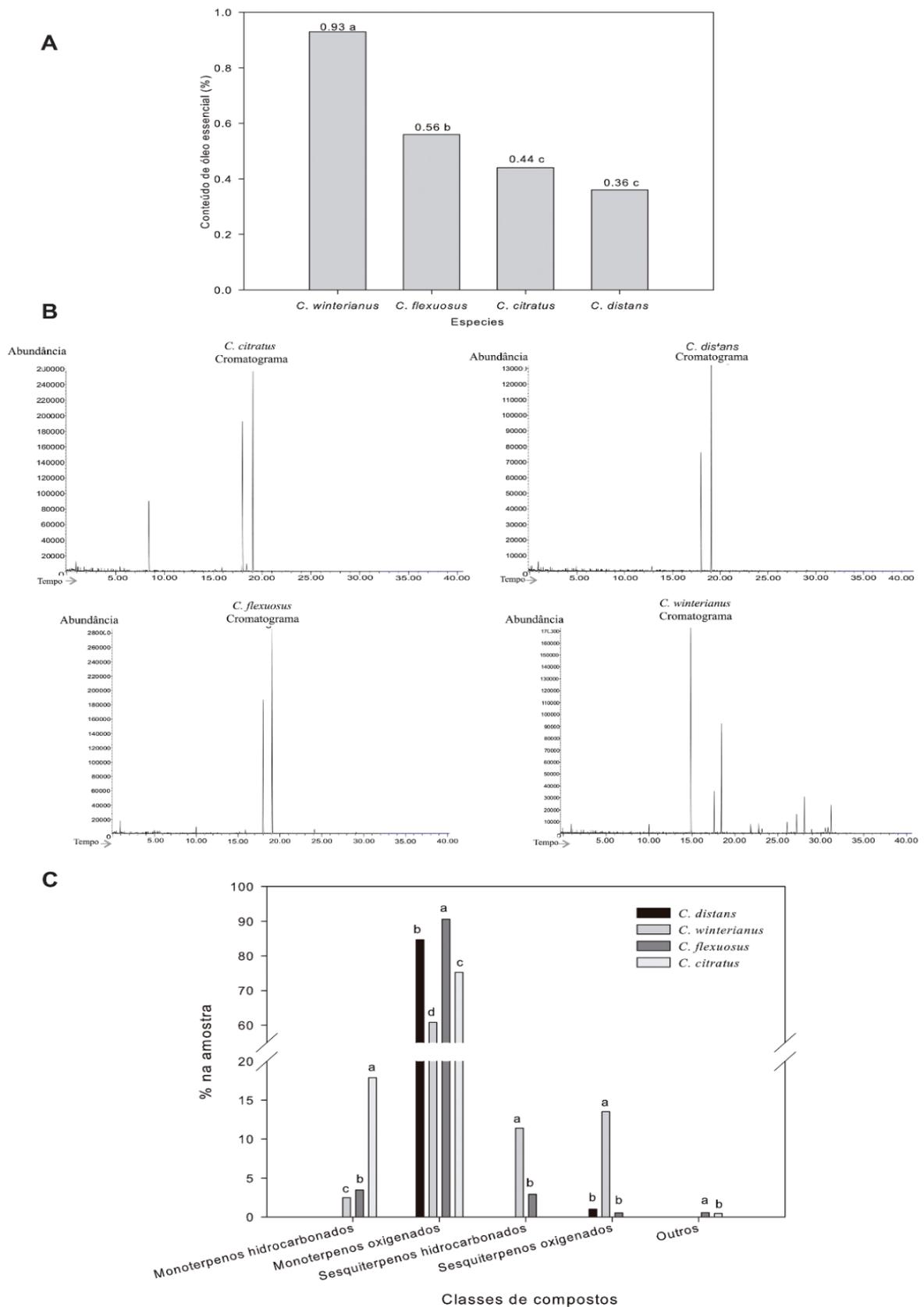


Figura 1- Identificação e concentração dos compostos encontrados em plantas do gênero *Cymbopogon*. (A) Conteúdo de óleo essencial obtido de diferentes plantas do gênero *Cymbopogon*; (B) Cromatogramas de íons típicos obtidos por HPLC a partir de óleo de *Cymbopogon*. (C) Intensidade dos compostos principais encontrados nas quatro espécies de *Cymbopogon*.

Tabela 1 - Compostos identificados em cada espécie de *Cymbopogon*.

Compostos (%)	C. <i>dist.</i>	SD	C. <i>flex</i>	SD	C. <i>citr</i>	SD	C. <i>wint</i>	SD	RT	IK cal	IK tab
Camphene	–	–	0,37	± 0,02	–	–	–	–	11,7	947,1	946
6-metil-5-hepteno-2-one	–	–	0,56	± 0,05	0,43	± 0,03	–	–	13,2	983,7	986
mirreno	–	–	–	–	17,47	± 0,17	–	–	13,4	988,6	988
limoneno	–	–	2,93	± 0,26	–	–	2,45	± 0,28	15,0	1027,7	1027
linalool	2,72	± 0,14	–	–	1,13	± 0,2	–	–	17,8	1098,9	1097
neo-isopulegol	–	–	–	–	–	–	2,81	± 0,66	19,7	1146,7	1148
citronellal	–	–	3,15	± 0,32	–	–	31,85	± 2,42	19,9	1152,3	1153
cis-chrysanthenol	–	–	4,26	± 0,14	–	–	–	–	20,2	1160,5	1164
cis-Verbenol	–	–	9,20	± 0,53	6,05	± 0,39	–	–	20,9	1179,0	1188
citronellol	0,94	± 0,14	–	–	–	–	9,90	± 0,26	22,6	1225,6	1226
β-citral	26,53	± 0,51	28,50	± 0,33	26,02	± 0,26	–	–	23,0	1237,1	1240
cis-geraniol	–	–	0,27	± 0,05	0,91	± 0,04	12,56	± 0,24	23,4	1248,9	1253
α-citral	54,47	± 0,08	45,21	± 0,4	40,70	± 0,98	0,70	± 0,05	24,1	1267,1	1268
2-undecanone	–	–	–	–	0,47	± 0,02	–	–	24,9	1291,0	1294
acetato de citronelila	–	–	–	–	–	–	1,74	± 0,18	26,8	1348,2	1353
acetato de geraniol	–	–	–	–	–	–	1,21	± 0,08	27,8	1376,4	1381
β-elemene	–	–	–	–	–	–	4,53	± 0,29	28,2	1387,7	1391
β-cariofileno	–	–	1,95	± 0,38	–	–	–	–	29,1	1418,3	1417
germacrene D	–	–	–	–	–	–	0,61	± 0,10	31,1	1479,8	1485
α-muurolene	–	–	–	–	–	–	1,48	± 0,10	31,6	1496,5	1497
γ-cadinene	–	–	0,94	± 0,31	–	–	1,01	± 0,10	32,0	1511,1	1512
δ-cadinene	–	–	–	–	–	–	3,76	± 0,30	32,2	1516,4	1517
elemol	–	–	–	–	–	–	10,25	± 1,09	33,1	1546,7	1550
óxido de cariofileno	1,00	0,14	0,52	± 0,26	–	–	–	–	34,1	1580,2	1583
δ-cadinol	–	–	–	–	–	–	1,21	± 0,13	35,9	1641,6	1646
α-cadinol	–	–	–	–	–	–	2,06	± 0,32	36,2	1653,6	1654

RT: Tempo de retenção; C. dist – *C. distans*; C. flex – *C. flexuosus*; C. citr – *C. citratus*; C. wint – *C. winterianus*;

IK cal – Índice de Kovats calculado; IK tab – Índice de Kovats tabelado; SD – Desvio padrão.

A análise de PC evidenciou a diferença entre as espécies estudadas com base nos compostos voláteis. O PC 1 apresentou o maior valor, com 65,5% e o PC 2 apresentou 21,8% da variabilidade total no conjunto de dados (Figura 2 A).

Os escores VIP foram utilizadas para determinar quais compostos contribuíram para a separação do cluster. Dos 25 picos avaliados, o que colaborou para a maior diferença entre as espécies foi o α-Citral, disponível em maior concentração em *C. distans*. O segundo composto que mais contribuiu na diferenciação entre as espécies

foi o citronellal, com alta concentração em *C. winterianus*. O β -Citral e Mirceno também contribuíram para a diferenciação, mas em menor escala (Figura 2 B e C).

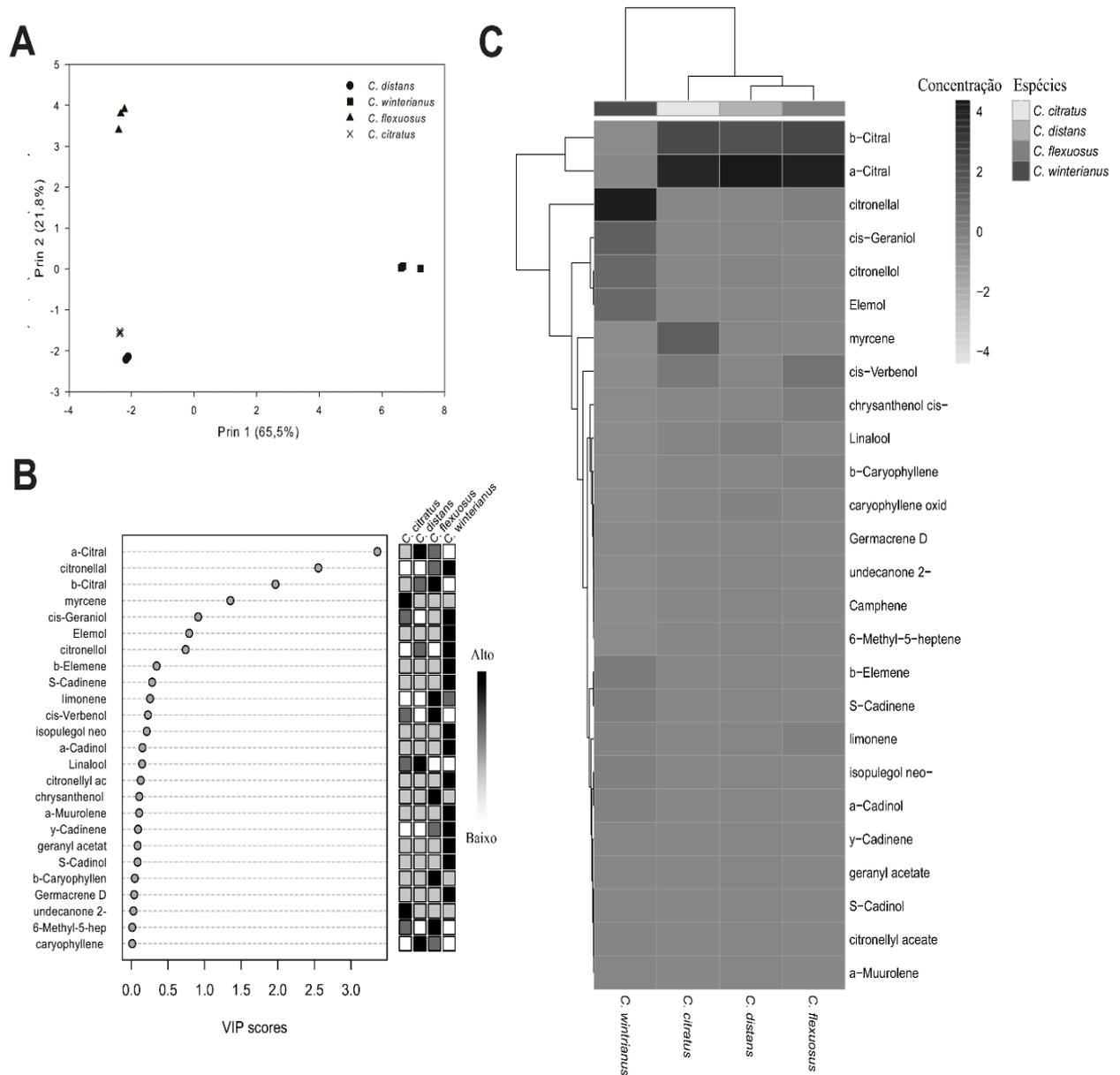


Figura 2 - Perfil químico obtido do óleo de *Cymbopogon* spp. (A) Análise de componente principal de espécies de *Cymbopogon* com base em seus constituintes. (B) Proporção de importância variável em projeção (VIP) da análise discriminante de mínimos quadrados iniciais (PLS-DA) derivada de dados LCMS. (C) Agrupamento hierárquico de quatro espécies de *Cymbopogon*, com base em dados de metabolômica não-direcionada (25 compostos).

5.3.3. Compostos desconhecidos

Grande parte dos compostos presentes no OE das espécies de *Cymbopogon* foram identificados (*C. distans*: 85,6%; *C. winterianus*: 88,1%; *C. flexuosus*: 97,8%; *C. citratus* 93,1%) como mostra a Tabela 1.

5.3.4. Vias metabólicas

Os terpenos são originados a partir de duas vias metabólicas, a via do ácido mevalônico e a via do metileritritol fosfato (Figura 3). Essas vias são originárias do ácido pirúvico e do Acetil-CoA, compostos presentes no metabolismo primário. As TERPENO SINTASE são enzimas encontradas nessas vias e catalisam a formação de múltiplos produtos, utilizando Geranyl-PP (para monoterpenos) e Farnesil-PP (para sesquiterpenos) como precursores.

5.4. Discussão

A produção de OE depende de fatores ecofisiológicos e ambientais (GANJEWALA, 2009; SANGWAN et al., 2001). Estudos mostram que o teor de OE de *C. flexuosus* pode variar de 0,3% a 0,9%, dependendo do ambiente, enquanto que em *C. distans* variam de 0,3% a 0,4%, e em *C. citratus* o intervalo é de 0,4% a 0,7 %. Nos estudos com *C. winterianus*, os teores de OE são de aproximadamente 0,8%. (CHAUHAN et al., 2016; D'AVILA et al., 2016; RANA; DAS; BLAZQUEUZ, 2016; SINGH; KUMAR, 2017). No presente estudo foram encontradas concentrações dentro dos intervalos citados para cada espécie, com exceção de *C. winterianus* que apresentou maior teor, com 0,93% de OE. Estes resultados demonstram que *C. winterianus* é a espécie mais produtiva, com uma diferença no conteúdo de OE de 0,37% para *C. flexuosus* e 0,57% para *C. distans*.

As espécies *C. flexuosus* e *C. citratus* possuem maior número de substâncias químicas identificadas já disponíveis na literatura. A espécie *C. distans* não é bem conhecida e os estudos focados em sua composição de OE são escassos, ainda assim, a alta concentração de citral encontrada nesta planta mostra que ela tem grande potencial para uso industrial.

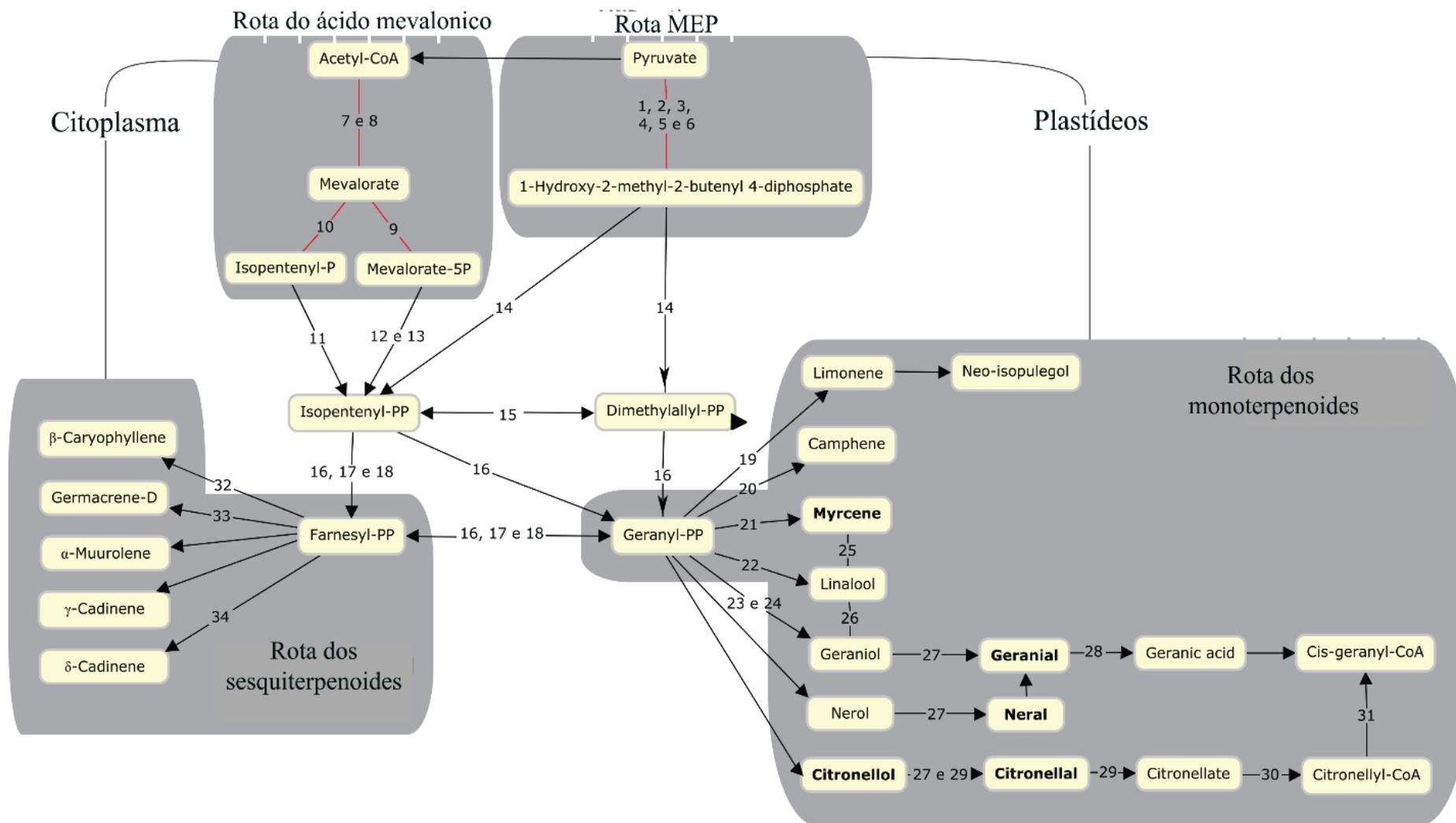


Figura 3 - Rota de biossíntese dos terpenos. Rotas metabólicas de síntese e degradação dos principais constituintes do óleo essencial das quatro espécies de *Cymbopogon* utilizadas neste estudo. MEP: metileritritol 4-fosfato. Os números de enzimas possuem seus nomes correspondentes disponíveis no Apêndice E. Os compostos de maior importância nas espécies em estudo são destacados em negrito. Adaptada Kegg mapas: 00020, 01062, 00900, 00902, 00909 e 00281.

Em geral, os OEs são complexos, apresentando uma grande variedade de compostos altamente funcionais pertencentes a diferentes classes químicas. Os terpenoides pertencem a uma dessas classes químicas e são considerados metabólitos secundários de significância ecológica, uma vez que muitos deles medeiam as interações planta-ambiente e são os constituintes predominantes em OEs das plantas aromáticas (BATTILANA et al., 2009; SANGWAN et al., 2001).

Os principais compostos das plantas de *Cymbopogon* são citral, geraniol, citronellal e piperitona. Cada espécie pode ter quimiotipos diferentes e variar tanto na presença quanto na concentração de compostos em seu OE, de acordo com seu ambiente de crescimento (AVOSEH et al., 2015). *C. citratus* possui níveis elevados de β -Citral e α -Citral (26-50% e 33-50% respectivamente), bem como alta concentração de mirceno (9-27%) (AKHILA, 2010b; AVOSEH et al., 2015; MOHAMED HANAA et al., 2012). *C. flexuosus* é caracterizado por apresentar somente β -Citral e α -Citral em altas concentrações (29-35% e 30-45% respectivamente) enquanto os demais compostos estão presentes em menores quantidades (AKHILA, 2010b; AVOSEH et al., 2015). O mesmo ocorre com o *C. distans*, que apresenta β -Citral e α -Citral em altas concentrações (15-20% e 20-30% respectivamente), além de alta concentração de acetato de geranila, composto este não encontrado neste estudo (CHAUHAN et al., 2016). A espécie *C. winterianus* apresenta perfil metabólico mais diferenciado, com citronellal (26-36%), citronellol (7-15%), geraniol (16-84%) e elemol (2-10%) (AKHILA, 2010b; AVOSEH et al., 2015; CHAUHAN et al., 2016; KAKARAPARTHI et al., 2014; MOHAMED HANAA et al., 2012; SIMIC et al., 2008; SINGH; KUMAR, 2017). Neste estudo, os compostos mais abundantes de cada espécie apresentaram concentrações dentro dos intervalos descritos na literatura, como o mirceno (17,4%) e o citronellal (31,8%). Para β -Citral e α -Citral *C. distans* apresentou valores mais elevados, com 26,5% e 54,4%, respectivamente. Estudos futuros devem explorar ainda mais o uso desses compostos, uma vez que sua concentração nessas amostras é alta.

A qualidade do OE do capim limão e muitas outras ervas aromáticas com odor de limão é devido ao seu conteúdo citral. O Citral é uma mistura de dois monoterpênicos isômeros: o isômero *E* é conhecido como geraniol ou α -citral e possui ligação dupla conjugada à carbonila; o isômero *Z* é conhecido como neral ou β -citral e possui ligação dupla conjugada à carbonila aldeídica. O Citral é amplamente utilizado como aromatizante em cosméticos, perfumaria, colônias, desodorantes e sabonetes. No entanto, seu principal uso tem sido na indústria farmacêutica, atuando como precursor na síntese de iononas, metil-iononas e vitamina A, com potencial uso como agente

fungitóxico devido à sua inibição micelial (GUIMARÃES et al., 2011; WANY et al., 2013). A espécie *C. distans* destaca-se pela sua concentração de citral (81%), apresentando alto potencial para a utilização pela indústria, com cerca de 7.3% mais de citral que *C. flexuosus* e 14.3% mais que *C. citratus*, que são as espécies de *Cymbopogon* mais utilizadas para a produção de OE rico em citral.

O mirceno é um monoterpene hidrocarboneto aromático conhecido por suas propriedades medicinais, como atividades analgésicas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antibióticas, antibacterianas, antinociceptivas, antitumorais e antimutagênicas (HWANG et al., 2017; OHTSUBO et al., 2015). A espécie *C. citratus* apresentou alta concentração de mirceno (17.5%), demonstrando que possui alto potencial medicinal, especialmente por sua associação com alto teor de citral, possibilitando uma ação conjunta destes compostos potencializando a ação benéfica dessa espécie.

O citronellal é um monoterpene amplamente utilizado como repelente e estudos mostram que pode apresentar efeito fungicida, anticonvulsante, antinociceptivo e antioxidante (KIM et al., 2005; MELO et al., 2011; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011; RAMEZANI et al., 2002). O geraniol é um monoterpene acíclico com atividade antitumoral, *in vitro* e *in vivo*, bloqueando a fase S do ciclo celular, além de ser utilizado nas indústrias de cosméticos e alimentos devido ao seu agradável aroma de rosa e atividade antibacteriana, antimicrobiana e antifúngica (CARNESECCHI et al., 2004; LI et al., 2017b; SALVI; KAMBLE; YADAV, 2017). O citronellol é um álcool monoterpene que possui atividade vasorelaxante, anticonvulsiva, analgésica, antibacteriana e anti-inflamatória (BRITO et al., 2012, 2015; DE SOUSA et al., 2006). O elemol é um álcool sesquiterpene com cheiro doce de madeira verde e possui comprovada ação antifúngica, repelente e inseticida (CARROLL et al., 2010; ODIMEGWU et al., 2013; SEONHONG et al., 2016). A alta concentração de citronellal (31,8%), geraniol (12.5%), citronellol (9,9%) e elemol (10,2%) em *C. winterianus* mostra o potencial da espécie para o uso medicinal e farmacológico, bem como no controle de patógenos. Pesquisas adicionais devem permitir selecionar materiais que aumentem a produção desses compostos.

Existem ainda picos não identificados nos OEs das espécies de *Cymbopogon* e estudos em geral, mostram que cerca de 85% a 99% da composição da amostra consiste em compostos já descritos, com exceção de compostos encontrados em baixas concentrações (MOHAMED HANAA et al., 2012; SHAHI; TAVA, 1993; SIMIC et al., 2008).

Nas plantas, os terpenos são formados a partir de um bloco de construção de cinco carbonos de difosfato de isopentenilo e do seu isômero difosfato de dimetilalilo. As plantas sintetizam os terpenoides por duas vias independentes, uma que possui o ácido mevalônico como intermediário (MVA) e ocorre no citoplasma e uma com 1-desoxi-D-xilulose 5-fosfato / 2C-metil- D-eritritol 4-fosfato (DOXP / MEP) que ocorre em plastídios. O difosfato de isopentenilo e o difosfato de dimetilalilo são condensados pela ação de DIFOSFATO SINTASES DE ISOPRENILO para formar difosfatos de isoprenilo de vários comprimentos de cadeia, tais como difosfato de geranilo (GPP, C10), difosfato de farnesilo (FPP, C15) e difosfato de geranylgeranilo (GGPP, C20) (BATTILANA et al., 2009; JIA et al., 2017; LI et al., 2017a; MEENA et al., 2017). Nas plantas estudadas, o isopentenil difosfato e seu isômero são direcionados principalmente à formação de geranyl difosfato (GPP), fato evidenciado pelo grande número de monoterpenos sintetizados a partir deste composto nas amostras analisadas (Figura 1C).

Os monoterpenos são sintetizados principalmente através da via metileritritol 4-fosfato (MEP), que fornece os precursores dos terpenos. A variação quantitativa na produção dos monoterpenos pode ser controlada através do fluxo de substrato que é fornecido pela via MEP. A enzima DXP SINTASE (DXS) é considerada limitante para a taxa de fluxo de substrato da via MEP uma vez que possui estreita relação com o conteúdo de isoprenoides, através da expressão gênica. Estudos mostraram que em tricomas glandulares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), a abundância da transcrição de DXS correlacionou-se com o rendimento de OE, composto principalmente por monoterpenos (XIE; KAPTEYN; GANG, 2008). A baixa concentração de monoterpenos indica que *C. winterianus* provavelmente apresenta menor transcrição de DXS quando comparado às demais espécies. No entanto, apresentou alto rendimento de OE, sendo necessário outros estudos para verificar se há relação entre a produção de monoterpenos e o teor de OE.

A segunda e a sexta enzima na via MEP, DXP REDUCTOISOMERASE (DXR) e 4-HIDROXI-3-METILBUT-2-EN-1-YL DIFOSFATO SINTASE (HDS) (Figura 3), são potenciais pontos de controle regulatório na produção de terpenos, influenciando a taxa de fluxo desta via que pode variar entre as espécies (ZENG et al., 2016). Essa regulação pode ser responsável pela produção de compostos diferenciados entre as espécies estudadas (Figura 1C). Estudos de RNAseq poderiam fornecer informações adicionais sobre quantidade e formas de transcrição produzidas por diferentes *loci* envolvidos nestas vias em cada uma dessas espécies.

As TERPENO SINTASE são enzimas primárias responsáveis por catalisar a síntese dos monoterpenos e sesquiterpenos, a partir do farnesil-PP e geranil-PP (Figura 4) (THOLL, 2006). A grande diversidade de terpenos está associada ao grande número de enzimas de TERPENO SINTASE e também da capacidade que esses catalizadores possuem de produzir múltiplos produtos de um único substrato (DEGENHARDT; KÖLLNER; GERSHENZON, 2009; LI et al., 2017a). De acordo com os produtos de terpeno que essas enzimas formam, as TERPENO SINTASE podem ser classificadas como MONOTERPENO SINTASE, SESQUITERPENO SINTASE ou DITERPENO SINTASE (JIA et al., 2017). As SESQUITERPENO SINTASE formam maior diversidade estrutural de produtos, devido ao maior esqueleto de carbono do Farnesil-PP, quando comparado ao Geranil-PP e a presença de três, em vez de duas ligações duplas.

Essa grande variedade de compostos produzidos pelas plantas em estudo pode servir como defesa contra patógenos ou herbívoros, ou até mesmo atrair organismos benéficos, como polinizadores. A seleção natural desempenha um papel importante na evolução das vias metabólicas, pelas quais as plantas sintetizam substâncias químicas que podem ser prejudiciais ou benéficas para outras espécies. (CHEN et al., 2011; SINGH; SHARMA, 2015). Isso pode explicar parcialmente a grande variedade de compostos encontrados nessas plantas, que não são comumente usados para alimentação animal, e nem são atacados por pragas e patógenos.

De maneira geral, este estudo permitiu detectar que *C. distans* foi a espécie com o menor número de diferentes compostos em seu OE, algo que poderia estar associado a menor ação das enzimas TERPENO SINTASE. Poucos estudos foram feitos nesta espécie, embora mostre grande potencial. Seu alto conteúdo citral combinado com baixa concentração de outros produtos químicos similares pode ser útil na produção e purificação deste composto. Além disso, a maior compreensão das influências ambientais nos precursores desse metabólito pode nos ajudar a aumentar ainda mais sua concentração. *C. winterianus* apresentou maior diversidade de compostos, apresentando também maior porcentagem de sesquiterpenos em seu OE. Em *C. citratus* não foram encontrados sesquiterpenos, mostrando que nesta espécie existe ação predominante de MONOTERPENO SINTASE. *C. distans* e *C. flexuosus* também mostraram ação predominante de MONOTERPENO SINTASE, com concentrações muito baixas de sesquiterpenos.

O estudo de compostos produzidos por diferentes espécies de *Cymbopogon* é importante para evitar o consumo inadequado e para especificar seus possíveis usos,

possibilitando direcionar a pesquisa de acordo com a composição de cada espécie e seu potencial produtivo.

Estudos futuros de transcriptoma podem ser úteis para identificar conjuntos de genes que diferem quando se comparam genótipos de *Cymbopogon*, ajudando a entender as diferenças fisiológicas e ecológicas que permitirão produzir importantes metabólitos de interesse.

5.5. Conclusão

A espécie *C. distans* produz alto conteúdo de citral, principal componente de interesse comercial do gênero *Cymbopogon*, destacando-se em relação aos demais. Por outro lado, *C. winterianus* é a espécie com maior conteúdo de OE neste estudo, possuindo um perfil químico diferenciado, com grande potencial para a indústria cosmética e farmacêutica, devido a sua alta concentração de citronelal, citronelol e geraniol. A espécie *C. citratus* possui grande potencial de produção de mirceno, um importante intermediário utilizado com fins de perfumaria, aliado ao alto conteúdo de citral, já *C. flexuosus* possui perfil químico semelhante a *C. citratus*, porém sem a produção de mirceno.

6. Considerações finais

Existem características do ponto de vista morfológico, anatômico e químico que distinguem estas espécies, sendo estas características de fundamental importância, não só para o consumo em geral, mas para a utilização dessas espécies de forma comercial e para o melhoramento genético das mesmas.

Características como altura de planta e tamanho de folha são utilizadas para diferenciar as espécies, porém, em caso de dúvidas, deve-se utilizar características anatômicas relacionadas ao índice estomático e localização dos vasos condutores. A espécie *C. distans* é a que apresenta as características mais distintas das demais, facilitando sua identificação. As demais espécies precisam de uma análise mais detalhada para diferenciá-las.

O conhecimento do perfil químico, além de diferenciar as espécies, também direciona o seu uso correto, bem como, indica quais acessos têm potencial para serem alvo de seleção e melhoramento, na busca de plantas mais eficientes, com elevada produtividade e estabilidade.

As espécies apresentam perfil metabólico bastante diferenciado, tanto nas infusões, quanto no óleo essencial. As infusões evidenciam que *C. citratus* possui uma grande variedade de compostos, diferente de *C. flexuosus*, comprovando que quando confundidas e consumidas de forma equivocada, os efeitos esperados não serão atingidos. No caso do óleo essencial, *C. distans* é útil para a síntese semi-exclusiva de citral, devido sua alta concentração desse composto. A espécie *C. winterianus* apresenta compostos diferenciados no óleo essencial em relação as demais espécies, demonstrando que possui grande potencial para a indústria farmacêutica e cosmética, devido à alta concentração de citronelal, citronelol e geraniol.

A caracterização das espécies em estudo irá ajudar a direcionar o melhoramento genético das mesmas através do conhecimento das estruturas morfológicas e anatômicas, necessárias para saber a respostas das plantas perante o ambiente de cultivo, bem como, o conhecimento do perfil químico é necessário para direcionar os estudos em relação a composição das plantas e seus compostos de interesse.

Estudos futuros de transcriptoma podem ser úteis para identificar conjuntos de genes de interesse que diferem quando se comparam genótipos de *Cymbopogon*, auxiliando a compreensão das diferenças fisiológicas e ecológicas que permitirão produzir importantes metabólitos.

Referências

ABRANCHES, M. V. **Plantas medicinais e fitoterápicos: abordagem teórica com ênfase em nutrição**. Viçosa: AS Sistemas, 2015.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography: mass spectrometry**. 4 ed. ed. Illinois: Allured Business Media, 2009.

ADUKWU, E. C. et al. Antimicrobial activity, cytotoxicity and chemical analysis of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and pure citral. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 22, p. 9619–9627, 2016.

AGUIAR, T. V et al. Anati Quanti: Software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 649–659, 2007.

AKHILA, A. (ED.). **Essential oil-Bearing grasses: the genus *Cymbopogon***. Medicinal ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2010.

ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding ALLARD**,. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, INC, 1999.

ALVARES, C. A. et al. Köppen ' s climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2014.

ALVAREZ, J. M.; ROCHA, J. F.; MACHADO, S. R. Bulliform cells in *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert and *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae): Structure in relation to function. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 1, p. 113–119, 2008.

AMBROSE, D. C. P. (ED.). **Leafy medicinal herbs: botany, chemistry, postharvest technology and uses**. [s.l.] Cab International, 2016.

ANILKUMAR, K. et al. Evaluation of anti-inflammatory properties of isoorientin isolated from tubers of *Pueraria tuberosa*. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, n. 1, p. 1–10, 2017.

ANVISA. **Lista DCB Plantas Medicinais atualizada em dezembro 2017**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_1>

01_assetEntryId=3881905&_101_type=document&redirect=http>.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. v. 1

ARRIAGA, M. O. Austral South American species of *Erichloa*. In: JACOBS, S. W. L.; EVERETT, J. (Eds.). . **Grasses: systematics and evolution**. Collingwood: Csiro Publishing, 1998. p. 406.

AVOSEH, O. et al. *Cymbopogon* species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 7438–7453, 2015.

AZIZ, M. A. et al. Traditional uses of medicinal plants reported by the indigenous communities and local herbal practitioners of Bajaur Agency, Federally Administrated Tribal Areas, Pakistan. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 198, p. 268–281, 2017.

AZIZ, M. A. et al. Traditional uses of medicinal plants practiced by the indigenous communities at Mohmand Agency, FATA, Pakistan. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 14, n. 2, p. 1–16, 2018.

BAGAL, U. R. et al. The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm-specific lineage. **BMC genomics**, v. 13, n. Suppl 3, p. 1–9, 2012.

BAHARVAND-AHMADI, B.; ASADI-SAMANI, M. A mini-review on the most important effective medicinal plants to treat hypertension in ethnobotanical evidence of Iran. **Journal of Nephro pharmacology**, v. 6, n. 1, p. 3–8, 2017.

BARBOSA, L. C. DE S. **Morfo-anatomia e fitoquímica de *Cymbopogon densiflorus* (Steud.) Stapf e *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (Poaceae: Panicoideae)**. [s.l.] Universidade Federal de Goiás, 2007.

BARROS, L. et al. Use of HPLC–DAD–ESI/MS to profile phenolic compounds in edible wild greens from Portugal. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 169–173, 2011.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. (EDS.). **Essential oil: science, technology and applications**. 2. ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2010.

BATTILANA, J. et al. The 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate synthase gene co-localizes with a major QTL affecting monoterpene content in grapevine. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, n. 4, p. 653–669, 2009.

BENETI, S. C. et al. Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation. **Journal of Food Engineering**, v. 102, n. 4, p. 348–354, 2011.

BERTEA, C. M. et al. The C4 biochemical pathway, and the anatomy of lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) cultivated in temperate climates. **Plant Biosystems**, v. 137, n. 2, p. 175–184, 2003.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009.

BOUKHATEM, M. N. et al. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. **Libyan Journal of Medicine**, v. 9, p. 1–10, 2014.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010. v. 2.

BRASIL. **Política e programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica, 2016.

BRATT, K. **Secondary plant metabolites as defense against herbivores and oxidative stress**. [s.l.] Uppsala University, 2000.

BRITO, C. J. F. A.; RODELLA, R. A. Anatomia quantitativa da folha e do colmo de *Brachiaria brizantha* (Hochst, ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Rendle) Schweick (Poaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 2, p. 221–228, 2002.

BRITO, R. G. et al. Citronellol, a monoterpene alcohol, reduces nociceptive and inflammatory activities in rodents. **Journal of Natural Medicines**, v. 66, n. 4, p. 637–644, 2012.

BRITO, R. G. et al. Citronellol, a natural acyclic monoterpene, attenuates mechanical hyperalgesia response in mice: Evidence of the spinal cord lamina I inhibition. **Chemico-Biological Interactions**, v. 239, p. 111–117, 2015.

CAMPOS, J. et al. Lemon grass (*Cymbopogon citratus* (D. C) Stapf) polyphenols protect human umbilical vein endothelial cell (HUVECs) from oxidative damage induced by high glucose, hydrogen peroxide and oxidised low-density lipoprotein. **Food Chemistry**, v. 151, p. 175–181, 2014.

CARNESECCHI, S. et al. Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. **Cancer Letters**, v. 215, n. 1, p. 53–59, 2004.

CARROLL, J. F. et al. Elemol and amyris oil repel the ticks *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in laboratory bioassays. **Experimental and Applied Acarology**, v. 51, n. 4, p. 383–392, 2010.

CARVALHO, F. I. F. DE et al. **Condução de Populações no melhoramento Genético de Plantas**. 2. ed. Pelotas: UFPel, 2008.

CHAUDHARI, S. K. et al. Taxonomic inventory of grasses on the basis of morphological attributes from the Thar desert, Pakistan. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 4, n. 11, p. 509–517, 2013.

CHAUHAN, A. et al. Post harvest storage effect on essential oil content and composition of *Cymbopogon distans* (Nees ex Steud.) Wats. **Journal of Essential Oil Research**, v. 28, n. 6, p. 540–544, 2016.

CHEEL, J. et al. Free radical scavengers and antioxidants from Lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2511–2517, 2005.

CHEN, F. et al. The family of terpene synthases in plants: A mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. **Plant Journal**, v. 66, n. 1, p. 212–229, 2011.

CONCEIÇÃO, L. O.; AOYAMA, E. M. Anatomia e histoquímica da lâmina foliar de espécies conhecidas por quebra-pedra (*Euphorbia prostrata* Aiton, *Euphorbia hyssopifolia* L., *Phyllanthus amarus* Schumacher & Thonn e *Phyllanthus tenellus* Roxb.). **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 18, n. 2, p. 571–581, 2016.

CORE TEAM, R. R. **A language and environment for statistical computing** ViennaR Foundation for Statistical Computing, , 2014.

COSTA, G. et al. Flavan hetero-dimers in the *Cymbopogon citratus* infusion tannin fraction and their contribution to the antioxidant activity. **Food & Function**, v. 6, n. 3, p. 932–937, 2015.

COSTA, G. et al. Influence of harvest date and material quality on polyphenolic content and antioxidant activity of *Cymbopogon citratus* infusion. **Industrial Crops & Products**, v. 83, p. 738–745, 2016a.

COSTA, G. et al. Polyphenols from *Cymbopogon citratus* leaves as topical anti-inflammatory agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 178, p. 222–228, 2016b.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271–276, 2013.

CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Plant anatomy: An applied approach**. [s.l.] Blackwell, 2007.

D'AVILA, J. V et al. Essential oil production of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) under organic compost containing sewage sludge. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 9, p. 811–816, 2016.

DAL'MOLIN, C. G. DE O. et al. From reconstruction to C4 metabolic engineering: A case study for overproduction of polyhydroxybutyrate in bioenergy grasses. **Plant Science**, v. 273, n. Aug 2018, p. 50–60, 2018.

DAVID, M. DE. **Os recursos vegetais e a etnobotânica em quintais urbanos de Várzea Grande, Mato Grosso, Brasil**. [s.l.] Universidade Federal de Mato Grosso, 2015.

DE SOUSA, D. P. et al. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. **Neuroscience Letters**, v. 401, n. 3, p. 231–235, 2006.

DEGENHARDT, J.; KÖLLNER, T. G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. **Phytochemistry**, v. 70, n. 15–16, p. 1621–1637, 2009.

DILEEP, P.; GEETHA, G. N. Taxonomic and ethnobotanical studies of grasses used by tribals of Wayanad district, Kerala, south western ghats of India. **Journal of Global Biosciences**, v. 4, n. 5, p. 2212–2235, 2015.

DOMÍNGUEZ BARRADAS, C.; CRUZ MORALES, G. E.; GÓNZÁLEZ GÁNDARA, C. Plantas de uso medicinal de la Reserva Ecológica “Sierra de Otontepec”, municipio de Chontla, Veracruz, México. **Revista de Ciencia UAT**, v. 9, n. 2, p. 41–52, 2015.

EKPENYONG, C. E.; AKPAN, E. E. Use of *Cymbopogon citratus* essential oil in food preservation: Recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 12, p. 2541–2559, 2017.

ELTAHIR, A. S.; ABUEREISH, B. I. Leaf and stem anatomy of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon schoenanthus* in Sudan. **Journal of Chemical and**

Pharmaceutical Research, v. 2, n. 4, p. 766–771, 2010.

EMÍLIO, J. et al. Recursos genéticos e perspectivas do melhoramento de plantas medicinais. 1996.

EOL. **Cymbopogon flexuosus & mdash; Common names**. Disponível em: <http://eol.org/pages/1115597/names/common_names>. Acesso em: 26 jun. 2018.
FAOSTAT. **Production crops**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 14 maio. 2018.

FERRO, A. F. P.; BONACELLI, M. B. M.; ASSAD, A. L. D. Oportunidades tecnológicas e estratégias concorrenciais de gestão ambiental: o uso sustentável da biodiversidade brasileira. **Gestão & Produção**, v. 13, n. 3, p. 489–501, 2006.

FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L. G.; BARROSO, J. G. Plantas aromáticas e medicinais. **Revista da Associação Portuguesa de Horticultura -APH**, n. 124, p. 29–33, 2014.

FIGUEIRINHA, A. et al. *Cymbopogon citratus* leaves: Characterisation of flavonoids by HPLC–PDA–ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 718–728, 2008.

FIGUEIRINHA, A. et al. Anti-inflammatory activity of *Cymbopogon citratus* leaf infusion in lipopolysaccharide-stimulated dendritic cells: contribution of the polyphenols. **Journal os Medicinal Food**, v. 13, n. 3, p. 681–690, 2010.

FRANCO-VEGA, A. et al. Estimation of mass transfer coefficients of the extraction process of essential oil from orange peel using microwave assisted extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 170, p. 136–143, 2015.

FURLAN, M. R. et al. Variação dos teores de constituintes voláteis de *Cymbopogon citratus* (DC) Staf, Poaceae, coletados em diferentes regiões do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 5, p. 686–691, 2010.

GANDHI, S. G.; MAHAJAN, V.; BEDI, Y. S. Changing trends in biotechnology of secondary metabolism in medicinal and aromatic plants. **Planta**, v. 241, n. 2, p. 303–317, 2015.

GANJEWALA, D. *Cymbopogon* essential oils : Chemical compositions and bioactivities. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v. 3, n. 2–3, p. 56–65, 2009.

GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the

natural world. **Nature Chemical Biology**, v. 3, n. 7, p. 408–414, 2007.

GHASEMZADEH, A.; GHASEMZADEH, N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 31, p. 6697–6703, 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GODWIN, A. et al. Determination of elemental, phenolic, antioxidant and flavonoid properties of Lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf). **International Food Research Journal**, v. 21, n. 5, p. 1971–1979, 2014.

GOETZ, P. Aromathérapie en pathologie digestive. **Phytothérapie**, v. 5, n. 1, p. 21–24, 2007.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf: aspectos botânicos e ecológicos. **Planta Medica**, v. 55, n. 07, p. 617–617, 1989.

GOULÃO, L. F. Erva-príncipe, um tesouro a (re)descobrir. **Revista da Associação Portuguesa de Horticultura**, p. 1, 2015.

GRAND VIEW RESEARCH. **Essential oil market analysis by product (orange, corn mint, eucalyptus, citronella, peppermint, lemon, clove leaf, lime, spearmint and others), by application (medical, food & beverage, spa & relaxation, cleaning & home and others) and segment forecasts**. Disponível em: <<http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/essential-oils-market>>.

GRIGORE, M.-N.; TOMA, C. Bulliform cells. In: **Anatomical Adaptations of Halophytes**. [s.l.] Springer, 2017. p. 325–338.

GUIMARÃES, L. G. D. L. et al. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464–472, 2011.

GUPTA, B. K. Chromosome numbers in some species of *Cymbopogon*. Proceedings of the Indian Academy of Sciences. v. 62, n. 3, p. 155-157, 1965.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1–93, 2006.

HABERLANDT, G. **Physiological plant anatomy**. London.: MacMillan, 1914.

HALL, V.; ROCHA, M.; RODRÍGUEZ, E. **Manual sobre conocimiento de plantas medicinales y su aplicación pecuaria**. [s.l: s.n.].

HEPWORTH, C. et al. Stomatal development: focusing on the grasses. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 41, n. Stage 5, p. 1–7, 2018.

HETHERINGTON, A. M.; WOODWARD, F. I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. **Nature**, v. 424, n. 21, p. 901–908, 2003.

HIRSCHHORN, H. H. Botanical remedies of the former dutch east indies (Indonesia). Part II: Dicotyledones up to and including leguminosae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 8, p. 65–96, 1983.

HUBINGER, S. Z.; SALGADO, H. R. N.; MOREIRA, R. R. D. Controles físico, físico-químico, químico e microbiológico dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 690–696, 2009.

HWANG, E. et al. Myrcene, an aromatic volatile compound, ameliorates human skin extrinsic aging via regulation of MMPs production. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 45, n. 5, p. 1–12, 2017.

JIA, Q. et al. MTPSLs: new terpene synthases in nonseed plants. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 2, p. 121–128, 2017.

JIANG, N.; DOSEFF, A.; GROTEWOLD, E. Flavones: from biosynthesis to health benefits. **Plants**, v. 5, n. 27, p. 1–25, 2016.

JOUNG, D.-K. et al. Potentiating activity of luteolin on membrane permeabilizing agent and ATPase inhibitor against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 1, p. 19–22, 2016.

KAKARAPARTHI, P. S. et al. Variation in the essential oil content and composition of *Citronella* (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) in relation to time of harvest and weather conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 240–248, 2014.

KAPLAN, W.; MATHERS, C. **The world medicines situation 2011** -. Geneva: World Health Organization, 2011. v. 3.

KARKANIS, A. et al. Phytochemical composition, health effects, and crop

management of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.): A medicinal plant. **Food Reviews International**, v. 34, n. 2, p. 182–203, 2018.

KENNEDY, R. A. Photorespiration in C3 and C4 plant tissue cultures: significance of Kranz anatomy to low photorespiration in C4 plants. **Plant physiology**, v. 58, n. 4, p. 573–575, 1976.

KHANUJA, S. P. S. et al. Essential oil constituents and RAPD markers to establish species relationship in *Cymbopogon* Spreng. (Poaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n. 2, p. 171–186, 2005.

KIM, I. et al. Development of the Kranz structure during leaf growth in C4 *Euphorbia maculate*. **Journal of Plant Biology**, v. 43, n. 4, p. 238–246, 2000.

KIM, J.-K. et al. Evaluation of repellency effect of two natural aroma mosquito repellent compounds, citronella and citronellal. **Entomological Research**, v. 35, n. 2, p. 117–120, 2005.

KUMAR, J. et al. Genetic diversity analysis in *Cymbopogon* species using DNA markers. **Plant Omics Journal**, v. 2, n. 1, p. 20–29, 2009.

LAL, R. K. Stability for oil yield and variety recommendations' using AMMI (additive main effects and multiplicative interactions) model in Lemongrass (*Cymbopogon* species). **Industrial Crops & Products**, v. 40, n. 1, p. 296–301, 2012.

LEVY, L. **Native plant preserve**. Disponível em: <<http://www.levypreserve.org/Plant-Listings/Cymbopogon-flexuosus>>. Acesso em: 26 jun. 2018.

LEWINSOHN, E. et al. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany**, v. 81, n. 1, p. 35–39, 1998.

LI, F. et al. Expression of lima bean terpene synthases in rice enhances recruitment of a beneficial enemy of a major rice pest. **Plant Cell and Environment**, v. 41, n. 1, p. 111–120, 2017a.

LI, X. et al. Transcription factor CitERF71 activates the terpene synthase gene CitTPS16 involved in the synthesis of e-geraniol in sweet orange fruit. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 17, p. 4929–4938, 2017b.

LIN, Y. et al. Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy. **Curr Cancer Drug Targets**, v. 8, n. 7, p. 634–646, 2009.

LONGHI-WAGNER, H. M. et al. Poaceae. In: WANDERLEY, M. DAS G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M. (Eds.). . **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP: HUCITEC, 2001. v. 1p. 317.

LÓPEZ-LÁZARO, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. **Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 31–59, 2009.

LOU, Z. et al. p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 550–554, 2012.

MA, C. et al. Characterization of active phenolic components in the ethanolic extract of *Ananas comosus* L. leaves using high-performance liquid chromatography with diode array detection and tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1165, n. 1–2, p. 39–44, 2007.

MARTENS, S. et al. Divergent evolution of flavonoid 2-oxoglutarate-dependent dioxygenases in parsley. **Federation of European Biochemical Societies**, v. 544, n. 1–3, p. 93–98, 2003.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V. **Coleta e identificação de espécimes botânicos**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002.

MEENA, S. et al. Transcriptomic insight into terpenoid and carbazole alkaloid biosynthesis, and functional characterization of two terpene synthases in curry tree (*Murraya koenigii*). **Scientific Reports**, v. 7, n. July 2016, p. 1–14, 2017.

MELO, M. S. et al. Bioassay-guided evaluation of central nervous system effects of citronellal in rodents. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 4, p. 697–703, 2011.

MOHAMED HANAA, A. R. et al. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as affected by drying methods. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 57, n. 2, p. 113–116, 2012.

MUZAC, I. et al. Functional expression of an Arabidopsis cDNA clone encoding a flavonol 3'-O-methyltransferase and characterization of the gene product. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 375, n. 2, p. 385–388, 2000.

NATH, S. C. et al. Comparison of volatile inflorescence oils and taxonomy of certain *Cymbopogon* taxa described as *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Wats. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 2, p. 151–162, 2002.

NEGRELLE, R. R. B.; GOMES, E. C. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical

composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 1, p. 80–92, 2007.

NIST, N. I. O. S. A. T. –. **NIST/EPA/NIH mass spectral library and search/analysis programs**HobokenJohn Wiley & Sons Ltd, , 2010.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. **The study of plant structure: principles and selected methods**. 1. ed. Melbourne: Termacarphi Pty. Ltd., 1981.

O'CONNOR, S. E. Engineering of secondary metabolism. **Annual Review of Genetics**, v. 49, n. 1, p. 71–94, 2015.

ODIMEGWU, J. I. et al. A new source of elemol rich essential oil and existence of multicellular oil glands in leaves of the dioscorea species. **The Scientific World Journal**, v. 2013, n. 2, p. 1–6, 2013.

OHTSUBO, S. et al. Inhibition of the compound action potentials of frog sciatic nerves by aroma oil compounds having various chemical structures. **Pharmacology Research and Perspectives**, v. 3, n. 2, p. 1–13, 2015.

OLTHOF, M. R.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. **Journal of nutrition**, v. 131, n. 1, p. 66–71, 2001.

OMAR, E. et al. Chemical composition and spasmolytic activity of *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. (Poaceae) essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 249–254, 2016.

ORREGO, R.; LEIVA, E.; CHEEL, J. Inhibitory effect of three C-glycosylflavonoids from *Cymbopogon citratus* (Lemongrass) on human low density lipoprotein oxidation. **Molecules**, v. 14, n. 10, p. 3906–3913, 2009.

OUSSALAH, M. et al. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. **Meat Science**, v. 73, n. 2, p. 236–244, 2006.

OUSSALAH, M. et al. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 414–420, 2007.

PELEGRIN, C. M. G. DE; LONGHI-WAGNER, H. M.; OLIVEIRA, P. L. DE. Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de espécies do Complexo *Briza* L. (Poaceae:

Pooideae: Poeae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 3, p. 666–680, 2009.

PINHEIRO, C. G. et al. Seasonal variability of the essential oil of *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, p. 176–184, 2016.

PINTO, Z. T. et al. Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 36–44, 2015.

POEHLMAN, J. M. **Breeding Field Crops**. New York: Springer Science+Business Media, LLC, 1959.

QUINTANS-JÚNIOR, L. et al. Antinociceptive action and redox properties of citronellal, an essential oil present in lemongrass. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 6, p. 630–639, 2011.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. et al. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**, v. 15, n. 8, p. 619–624, 2008.

RAJAGOPAL, T.; RAMAYYA, N. The taxonomic value of guard cells seen in surface view. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 74, n. 1, p. 57–61, 1977.

RAMEZANI, H. et al. Fungicidal effect of volatile oils from *Eucalyptus Citriodora* and its major constituent Citronellal. **Arable Entomology & Pathology**, v. 55, p. 327–330, 2002.

RANA, V. S.; DAS, M.; BLAZQUEZ, M. A. Essential oil yield, chemical composition, and total citral content of nine cultivars of *Cymbopogon* Species from Western India. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 22, n. 4, p. 289–299, 2016.

RAO, E. V. S. P. Aromatic plant species in agricultural production systems based on marginal soils. In: HEMMING, D. (Ed.). **Plant Sciences Reviews 2012**. Wallingford: CABI Publishing, 2013b. p. 275.

REHN, S. **Multilingua I dictionar y o f agronomic plants**. [s.l.] Springer Science+Business media, B.V., 1994.

RIBEIRO-JÚNIOR, N. G. et al. Tropical forages: morphoanatomy of plants grown in areas with the death of pasture syndrome. **Brazilian journal of biology**, v. 77, n. 4, p. 868–875, 2017.

RODRIGUES, A. C.; ESTELITA, M. E. M. Origin and structure of the Kranz tissue in bracts of *Cyperus giganteus* Vahl (Cyperaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 4, p. 445–452, 2003.

ROY, S. et al. Synthesis, characterization and antioxidant activity of luteolin-vanadium (II) complex. **Food Chemistry**, v. 173, p. 1172–1178, 2015.

SAITO, K. et al. The flavonoid biosynthetic pathway in *Arabidopsis*: Structural and genetic diversity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 21–34, 2013.

SALVI, H. M.; KAMBLE, M. P.; YADAV, G. D. Synthesis of geraniol esters in a continuous-flow packed-bed reactor of immobilized lipase: optimization of process parameters and kinetic modeling. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 184, n. 2, p. 630–643, 2017.

SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regul.**, v. 34, n. 1, p. 3–21, 2001.

SANTOS, H. G. DOS et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 4 ed. ed. Brasília: Embrapa, 2014.

SANTOS, E. L. et al. Flavonoids: classification, biosynthesis and chemical ecology. In: JUSTINO, G. C. (Ed.). **Flavonoids - From biosynthesis to human health**. [s.l.] InTech, 2017. v. 6p. 482.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671–675, 2012.

SCHULZ, M.; WEISSENBOCK, G. Three specific UDP-glucuronate: Flavone-glucuronosyl-transferases from primary leaves of *Secale cereale*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 5, p. 1261–1267, 1988.

SCHWERZ, L. et al. Biomassa e teor de óleo essencial em *Aloysia triphylla* (L' hérit) Britton submetida a diferentes níveis de reposição hídrica e à variação sazonal das condições ambientais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 17, n. 4, p. 631–641, 2015.

SEGATTO, F. B. et al. Técnica para o estudo da anatomia da epiderme foliar de batata. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1597–1601, 2004.

SEONHONG, K. et al. Antifungal effect of elemol and eudesmol from *Cryptomeria*

japonica essential oil against *Trichophyton rubrum*. **Academia Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 8, p. 511–517, 2016.

SHAH, G. et al. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 1, p. 3–8, 2011.

SHAHI, A. K.; TAVA, A. Essential oil composition of three *Cymbopogon* species of Indian Thar desert. **Journal of Essential Oil Research**, v. 5, n. 6, p. 639–643, 1993.

SHIMADA, Y. et al. Expression of chimeric P450 genes encoding flavonoid-3', 5'-hydroxylase in transgenic tobacco and petunia plants. **FEBS Letters**, v. 461, n. 3, p. 241–245, 1999.

SHIN, H. S. et al. Anti-inflammatory effect of chlorogenic acid on the IL-8 production in Caco-2 cells and the dextran sulphate sodium-induced colitis symptoms in C57BL/6 mice. **Food Chemistry**, v. 168, p. 167–175, 2015.

SHOULIANG, C.; PHILLIPS, S. M. *Cymbopogon* Sprengel. **Flora of China**, v. 22, p. 624–631, 2006.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y. Anatomia comparativa de folhas e caules de *Axonopus scoparius* (Flügge) Kuhl. e *Axonopus fissifolius* (Raddi) Kuhl. (Poaceae). **Revista Brasileira Botânica**, v. 3, n. 2, p. 185–192, 2003.

SIMIC, A. et al. Essential oil composition of *Cymbopogon winterianus* and *Carum carvi* and their antimicrobial activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 6, p. 437–441, 2008.

SINGH, A.; KUMAR, A. Cultivation of Citronella (*Cymbopogon winterianus*) and evaluation of its essential oil, yield and chemical composition in Kannauj region. **International Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 13, n. 2, p. 139–146, 2017.

SINGH, B.; SHARMA, R. A. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. **3 Biotech**, v. 5, n. 2, p. 129–151, 2015.

SOENARKO, S. The Genus *Cymbopogon* Sprengel (Gramineae). **Reinwardtia**, v. 9, n. 3, p. 225–375, 1977.

SRINIVAS, P. et al. Analysis the Effect of Fly Ash and Vermicompost Combination on Herb Yield , Oil Content and Oil Composition of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*

Nees). **International Journal of Pure e Applied Bioscience**, v. 5, n. 4, p. 1710–1717, 2017.

STEEVES, T. A.; SAWHNEY, V. K. **Essentials of developmental plant anatomy**. New York: Osford University Press, 2017.

TAVARES, F. et al. *Cymbopogon citratus* industrial waste as a potential source of bioactive compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 13, p. 2652–2659, 2015.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C. Análise genômica em cromossomos de plantas com base no pareamento meiótico. **Biotemas**, v. 20, n. 4, p. 7–18, 2007.

THOLL, D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 3, p. 297–304, 2006.

TOTTI, R.; VENCOVSKY, R.; BATISTA, L. A. R. Utilização de métodos de agrupamentos hierárquicos em acessos de *Paspalum* (Graminea (Poaceae)). **Semina**, v. 22, p. 25–35, 2001.

TROPICOS. **Gênero *Cymbopogon***. Acesso em: 27 de jun. de 2018. Disponível em: < <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Cymbopogon&commonname=>>

VERDAM, M. C. DOS S.; SILVA, C. B. DA. O estudo de plantas medicinais e a correta identificação botânica. **Visão acadêmica**, v. 11, n. 1, p. 7–13, 2010.

VERMA, R. S.; PADALIA, R. C.; CHAUHAN, A. Introduction of *Cymbopogon distans* (Nees ex Steud.) Wats to the sub-tropical India: Evaluation of essential-oil yield and chemical composition during annual growth. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 858–863, 2013a.

VERMA, R. S.; PADALIA, R. C.; CHAUHAN, A. Compositional variation in Leaves and inflorescence essential oils of *Cymbopogon distans* (Steud.) Wats. from India. **National Academy Science Letters**, v. 36, n. 6, p. 615–619, 2013b.

WANG, L.-N. et al. Synthesis, anti-HCV, antioxidant and reduction of intracellular reactive oxygen species generation of a chlorogenic acid analogue with an amide bond replacing the ester bond. **Molecules**, v. 21, n. 737, p. 1–9, 2016.

WANY, A. et al. Chemical analysis and therapeutic uses of citronella oil from *Cymbopogon winterianus*: a short review. **International Journal of Advanced**

Research, v. 1, n. 6, p. 504–521, 2013.

WELKIE, G. W.; CALDWELL, M. Leaf anatomy of species in some dicotyledon families as related to the C3 and C4 pathways of carbon fixation. **Canadian Journal of Botany**, v. 48, n. 12, p. 2135–2146, 1970.

WHO. **Quality control methods for medicinal plant materials** WHO Library Cataloguing in Publication Dat. Geneva: World Health Organization, 1998.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. **Base química dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagem técnica e científica**. ed. 1 ed. São Paulo: Roca, 2010.

XAVIER, J. et al. **Caracterização morfológica e agrônômica de espécies do horto medicinal da embrapa amazônia oriental (parte 1)**, 2005. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/93762/1/Sp6198.pdf>>

XIA, J.; WISHART, D. S. Using metaboanalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 55, n. 14.10, p. 1–91, 2016.

XIE, Z.; KAPTEYN, J.; GANG, D. R. A systems biology investigation of the MEP/terpenoid and shikimate/phenylpropanoid pathways points to multiple levels of metabolic control in sweet basil glandular trichomes. **The Plant Journal**, v. 54, n. 3, p. 349–361, 2008.

YASAR, A.; MELZIG, M. F. Das Zitronengras: *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Zeitschrift für Phytotherapie**, v. 37, p. 183–187, 2016.

YESIL, Y.; AKALM, E. Comparative morphological and anatomical characteristics of the species known as lemongrass (limonotu): *Melissa officinalis* L., *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf . and *Aloysia citriodora* Palau. **Jounal Faculty of Pharmacy Istanbul**, v. 45, n. 1, p. 29–37, 2015.

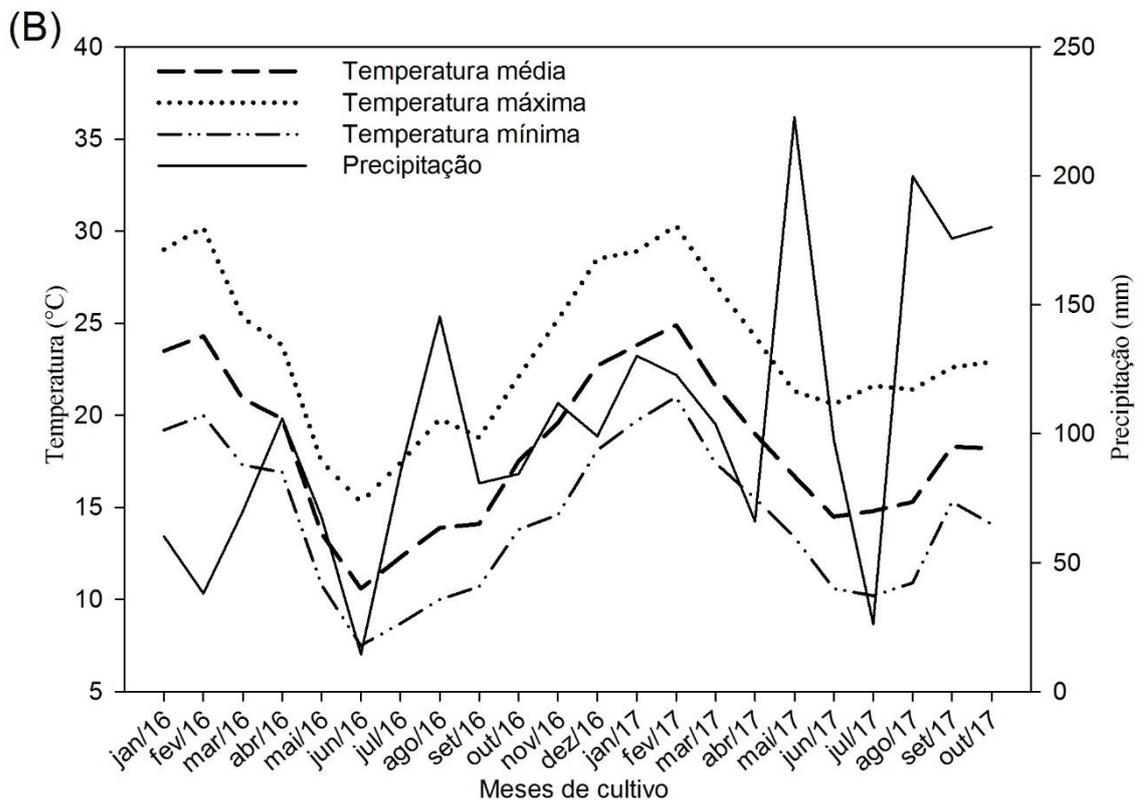
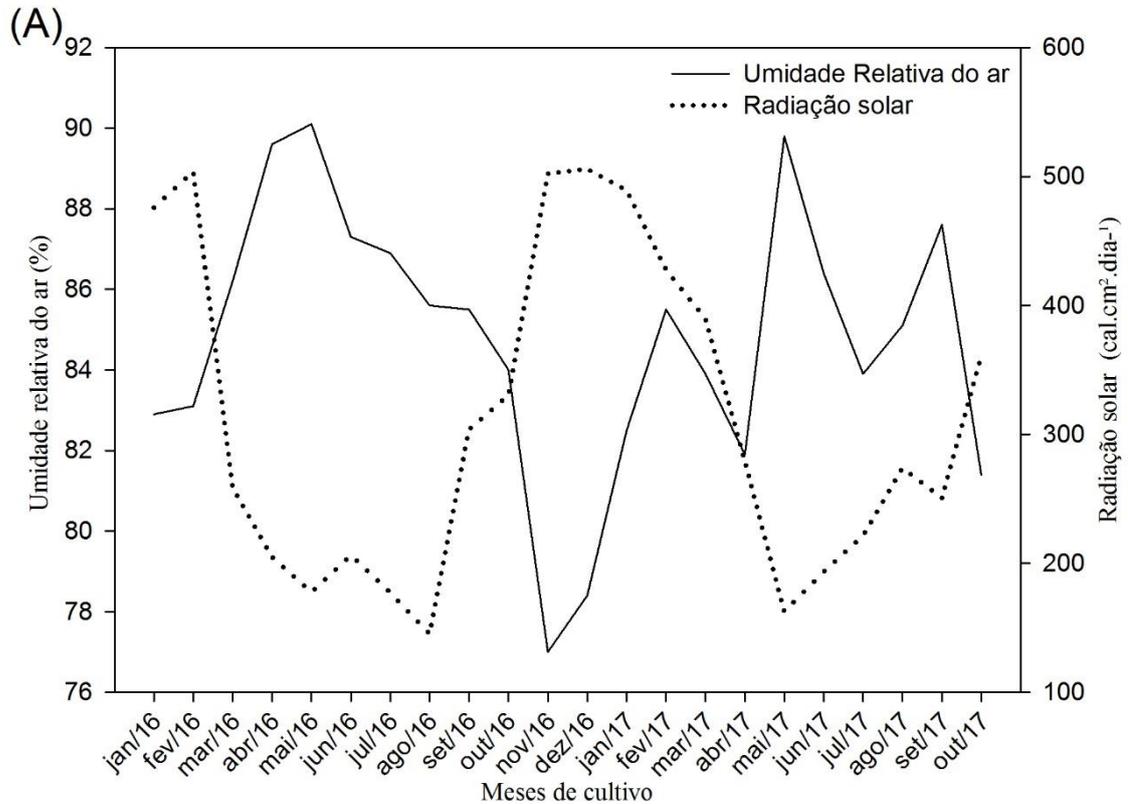
ZENG, X. et al. Emission and accumulation of monoterpene and the key terpene synthase (TPS) associated with monoterpene biosynthesis in *Osmanthus fragrans* Lour. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 1232, p. 1–16, 2016.

ZHANG, J. S. et al. Repellent constituents of essential oil of *Cymbopogon distans* aerial parts against two stored-product insects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 18, p. 9910–9915, 2011.

ZHANG, Z. S. et al. Contribution of the alternative respiratory pathway to PSII photoprotection in C3 and C4 plants. **Molecular Plant**, v. 10, n. 1, p. 131–142, 2017.

Apêndices

Apêndice A: Condições climáticas durante o período de cultivo das plantas de *Cymbopogon* spp. nos anos de 2016 e 2017. (A) Umidade relativa do ar e energia solar média; (B) Temperatura e precipitação; Informação completa disponível em <<http://agromet.cpact.embrapa.br/estacao/index.html>>.



Apêndice B: Termo de compromisso de Utilização do Herbário PEL – UFPEL



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
HERBÁRIO PEL



TERMO DE COMPROMISSO DE UTILIZAÇÃO DO HERBÁRIO PEL – UFPEL (DUAS VIAS)

DADOS DO RESPONSÁVEL

NOME COMPLETO: Daiane Prochnow

E-MAIL: daia.prochnow@hotmail.com

ENDEREÇO: Av. Duque de Caxias, 291, bloco U, ap. 401, Fragata, Pelotas - RS

INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Pelotas

LABORATÓRIO/SETOR/PG: Centro de Genômica e Fitomelhoramento – Programa de Pós-Graduação em Agronomia

TELEFONES PARA CONTATO: (55) 9 99495804 ou (53) 32757263

DADOS DO PROJETO

NOME DO PROJETO: Identificação e caracterização de espécies do gênero *Cymbopogon* com potencial para um futuro programa de melhoramento vegetal

NOME DO ORIENTADOR: Luciano Carlos da Maia

NOME DO CO-ORIENTADOR: Antonio Costa de Oliveira

RELAÇÃO DE MATERIAL DEPOSITADO (com N° PEL)

Cymbopogon flexuosus (26.972)
C. winterianus (26.973)

Estou ciente das normas de utilização do Herbário PEL e cumprirei com as mesmas.

Data e Assinatura do Responsável: 04/10/2017

Daiane Prochnow

Data e Assinatura do Orientador: 04/10/2017

M.

Data e visto da Curadoria do PEL: 09/10/2017

Caroline Scherer

Herbário PEL
Departamento de Botânica
Instituto de Biologia – UFPEL
Campus Universitário – Caixa Postal 354
Pelotas – RS
CEP: 96010-900

HERBÁRIO PEL
DEPT.º DE BOTÂNICA IB/UFPEL
CAIXA POSTAL 354
PELOTAS - RS, BRASIL
96010-970

Fone: (053) 98121 5855
e.mail: cacabio@yahoo.com.br

Apêndice C: Termo de compromisso de Utilização do Herbário PEL – UFPEL



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
HERBÁRIO PEL



TERMO DE COMPROMISSO DE UTILIZAÇÃO DO HERBÁRIO PEL – UFPEL (DUAS VIAS)

DADOS DO RESPONSÁVEL

NOME COMPLETO: Daiane Prochnow

E-MAIL: daia.prochnow@hotmail.com

ENDEREÇO: Av. Duque de Caxias, 291, bloco U, ap. 401, Fragata, Pelotas - RS

INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Pelotas

LABORATÓRIO/SETOR/PG: Centro de Genômica e Fitomelhoramento – Programa de Pós-Graduação em Agronomia

TELEFONES PARA CONTATO: (55) 9 99495804 ou (53) 32757263

DADOS DO PROJETO

NOME DO PROJETO: Identificação e caracterização de espécies do gênero *Cymbopogon* com potencial para um futuro programa de melhoramento vegetal

NOME DO ORIENTADOR: Luciano Carlos da Maia

NOME DO CO-ORIENTADOR: Antonio Costa de Oliveira

RELAÇÃO DE MATERIAL DEPOSITADO (com N° PEL)

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf - 26.955

Cymbopogon distans (Steud.) Wats. - 26.956

Estou ciente das normas de utilização do Herbário PEL e cumprirei com as mesmas.

Data e Assinatura do Responsável: 12/06/18

Daiane Prochnow

Data e Assinatura do Orientador: 12/06/18

M

Data e visto da Curadoria do PEL: 12/06/18

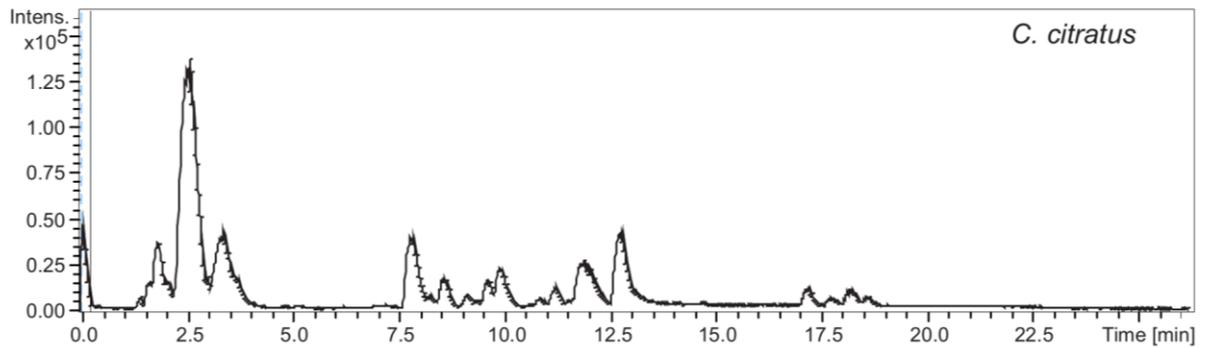
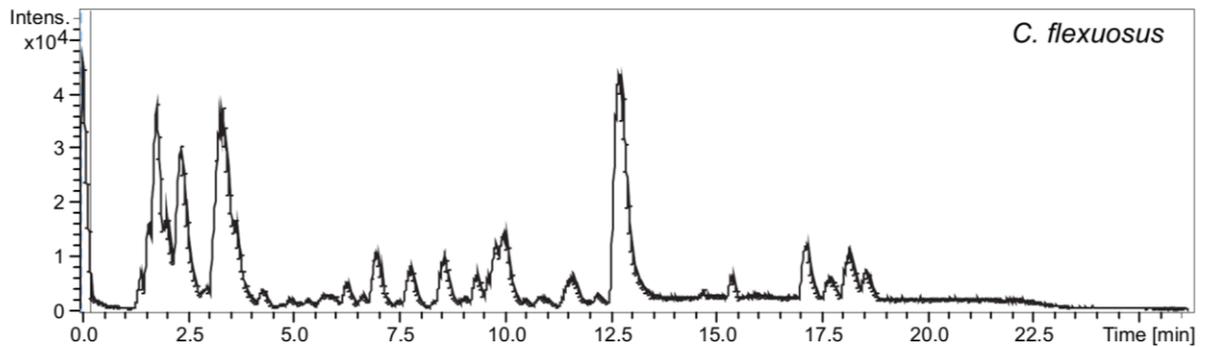
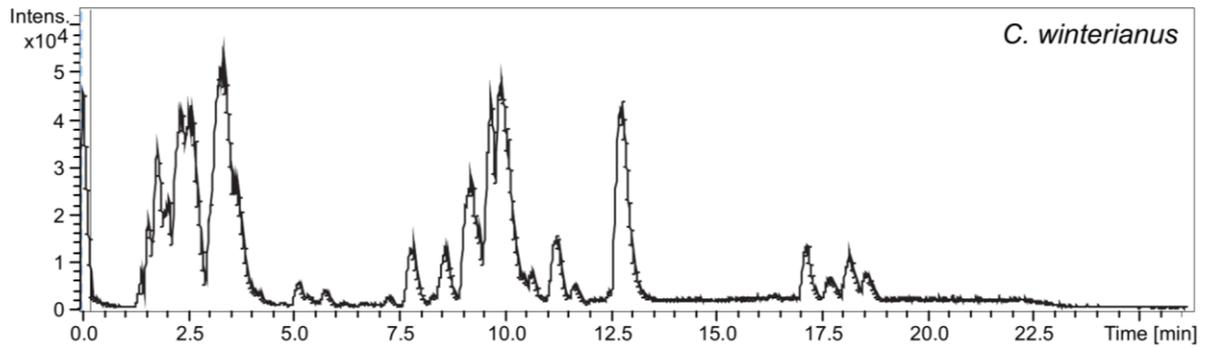
Caroline Scherer

HERBÁRIO PEL
DEPT.º DE BOTÂNICA IB/UFPEL
CAIXA POSTAL 354
PELOTAS - RS, BRASIL
96010-970

Herbário PEL
Departamento de Botânica
Instituto de Biologia – UFPEL
Campus Universitário – Caixa Postal 354
Pelotas – RS
CEP: 96010-900

Fone: (053) 98121 5855
e.mail: cacabio@yahoo.com.br

Apêndice D: Cromatograma obtido por HPLC de cada uma das três espécies de *Cymbopogon* analisadas neste estudo.



Apêndice E: Enzimas envolvidas na síntese e degradação de terpenos.

ID	ENZIMAS	#E.C.
1	1-DEOXY-D-XYLULOSE-5-PHOSPHATE SYNTHASE	2.2.1.7
2	1-DEOXY-D-XYLULOSE-5-PHOSPHATE REDUCTOISOMERASE	1.1.1.267
3	2-C-METHYL-D-ERYTHRITOL 4-PHOSPHATE CYTIDYLYLTRANSFERASE	2.7.7.60
4	4-DIPHOSPHOCYTIDYL-2-C-METHYL-D-ERYTHRITOL KINASE	2.7.1.148
5	2-C-METHYL-D-ERYTHRITOL 2,4-CYCLODIPHOSPHATE SYNTHASE	4.6.1.12
6	(E)-4-HYDROXY-3-METHYLBUT-2-ENYL-DIPHOSPHATE SYNTHASE	1.17.7.1
7	HYDROXYMETHYLGLUTARYL-COA SYNTHASE	2.3.3.10
8	HYDROXYMETHYLGLUTARYL-COA REDUCTASE	1.1.1.88
9	MEVALONATE KINASE	2.7.1.36
10	PHOSPHOMEVALONATE DECARBOXYLASE	4.1.1.99
11	ISOPENTENYL PHOSPHATE KINASE	2.7.4.26
12	PHOSPHOMEVALONATE KINASE	2.7.4.2
13	DIPHOSPHOMEVALONATE DECARBOXYLASE	4.1.1.33
14	4-HYDROXY-3-METHYLBUT-2-EM-1-YLDIPHOSPHATE REDUCTASE	1.17.7.4
15	ISOPENTENYL-DIPHOSPHATE DELTA-ISOMERASE	5.3.3.2
16	FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE	2.5.1.1
17	(2Z,6Z)-FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE	2.5.1.92
18	SHORT-CHAIN Z-ISOPRENYL DIPHOSPHATE SYNTHASE	2.5.1.68
19	LIMONENE SYNTHASE	4.2.3.16/ 4.2.3.20
20	CAMPHENE SYNTHASE	4.2.3.116
21	MYRCENE/OCIMENE SYNTHASE	4.2.3.15
22	LINALOOL SYNTHASE	4.2.3.25
23	GERANYL DIPHOSPHATE DIPHOSPHATASE	3.1.7.11
24	MONOTERPENYL-DIPHOSPHATASE	3.1.7.3
25	LINALOOL DEHYDRATASE	4.2.1.127
26	GERANIOL ISOMERASE	5.4.4.4
27	GERANIOL DEHYDROGENASE	1.1.1.183
28	GERANIAL DEHYDROGENASE	1.2.1.86
29	CITRONELLOL/CITRONELLAL DEHYDROGENASE	atuB
30	CITRONELLYL-CoA SYNTHASE	atuH
31	CITRONELLYL-CoA dehydrogenase	1.3.99.-
32	BETA-CARYOPHYLLENE SYNTHASE	4.2.3.57
33	GERMACRENE D SYNTHASE	4.2.3.75
34	DELTA-CADINENE SYNTHASE	4.2.3.13

*ID: número de identificação das enzimas envolvidas na rota dos terpenos da figura 3; #E.C.: identificador das enzimas no kegg.

Anexos

Anexo 1: Lista de espécies, subespécies, variedades e subvariedades do gênero *Cymbopogon*. Adaptada de Akhila (2010) e Trópicos (2018).

Lista de espécies, subespécies, variedades e subvariedades do Gênero *Cymbopogon*

<i>Cymbopogon acutispathaceus</i> De Wild	<i>Cymbopogon martinianus</i> Schult.
<i>Cymbopogon afronardus</i> Stapf	<i>Cymbopogon martinii</i> Stapf.
<i>Cymbopogon ambiguus</i> A. Camus.	<i>Cymbopogon mekongensis</i> A. Camus
<i>Cymbopogon andongensis</i> Rendle	<i>Cymbopogon melanocarpus</i> Spreng.
<i>Cymbopogon angustispica</i> Nakai	<i>Cymbopogon micrathelus</i> Pilg.
<i>Cymbopogon annamensis</i> A. Camus.	<i>Cymbopogon microstachys</i> (Hookf.)
<i>Cymbopogon arabicus</i> Nees ex Steud.	<i>Cymbopogon microthecus</i> A. Camus
<i>Cymbopogon arriani</i> Aitch.	<i>Cymbopogon minor</i> B.S. Sun and R. Zhang ex S.M. Phillips and S.L. Chen
<i>Cymbopogon arundinaceus</i> Schult.	<i>Cymbopogon minutiflorus</i> S. Dransf.
<i>Cymbopogon bagirmicus</i> Stapf	<i>Cymbopogon modicus</i> De Wild.
<i>Cymbopogon bassacensis</i> A. Camus.	<i>Cymbopogon motia</i> B.K. Gupta
<i>Cymbopogon bequaertii</i> De Wild	<i>Cymbopogon munroi</i> (C.B. Clarke) Noltie
<i>Cymbopogon bhutanicus</i> Noltie	<i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle
<i>Cymbopogon bombycinus</i> A. Camus.	<i>Cymbopogon nardus</i> subvar. <i>bombycinus</i> (R.Br.) Roberty
<i>Cymbopogon bombycinus</i> var. <i>bombycinus</i> (R.Br) Domin.	<i>Cymbopogon nardus</i> subvar. <i>exaltatus</i> (R.Br.) Roberty
<i>Cymbopogon bombycinus</i> var. <i>townsvillensis</i> Domin.	<i>Cymbopogon nardus</i> subvar. <i>grandis</i> Roberty.
<i>Cymbopogon bombycinus</i> var. <i>typicus</i> Domin.	<i>Cymbopogon nardus</i> subvar. <i>lanatus</i> (R.Br.) Roberty
<i>Cymbopogon bracteatus</i> Hitchcock	<i>Cymbopogon nardus</i> subvar. <i>refractus</i> (R.Br.) Roberty
<i>Cymbopogon caesius</i> (Hook and Arn.) Stapf	<i>Cymbopogon nardus</i> subvar. <i>schultzii</i> Roberty
<i>Cymbopogon caesius</i> subsp. <i>giganteus</i> (Chiov) Sales	<i>Cymbopogon nardus</i> var. <i>confertiflorus</i> (Steud.) Stapf ex Bor.
<i>Cymbopogon calcicola</i> C.E. Hubb.	<i>Cymbopogon nardus</i> var. <i>luridus</i> (Hookf.) Gavade and M.R. Almeida
<i>Cymbopogon calciphilus</i> Bor	<i>Cymbopogon nervatus</i> A. Camus
<i>Cymbopogon chevalieri</i> A. Camus	<i>Cymbopogon nyassae</i> Pilg.
<i>Cymbopogon chrysargyreus</i> Stapf	<i>Cymbopogon obtectus</i> S.T. Blake
<i>Cymbopogon circinnatus</i> Hochst. ex Hookf.	<i>Cymbopogon olivieri</i> (Boiss.) Bor.
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon osmastonii</i> R. Parker

<i>Cymbopogon citriodorus</i> Link.	<i>Cymbopogon pachnodes</i> (Trin.) Will Watson
<i>Cymbopogon claessensii</i> Robyns	<i>Cymbopogon papillipes</i> (Hochst. ex A. Rich) Chiov.
<i>Cymbopogon clandestinus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon parkeri</i> Stapf.
<i>Cymbopogon coloratus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon pendulus</i> Stapf.
<i>Cymbopogon commutatus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon phoenix</i> Rendle
<i>Cymbopogon commutatus</i> var. <i>jammuensis</i> (Gupta) H.B. Naithani	<i>Cymbopogon pilosovaginated</i> De Wild
<i>Cymbopogon condensatus</i> Spreng.	<i>Cymbopogon pleiarthron</i> (Stapf) Stapf ex Burtt Davy
<i>Cymbopogon confertiflorus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon plicatus</i> Stapf.
<i>Cymbopogon connatus</i> Chiov.	<i>Cymbopogon plurinodis</i> Stapf ex Burtt Davy
<i>Cymbopogon cyanescens</i> Stapf.	<i>Cymbopogon polyneuros</i> Stapf C. travancorensis Bor.
<i>Cymbopogon cymbarius</i> Rendle.	<i>Cymbopogon pospischilii</i> (K. Schum) C.E. Hubb.
<i>Cymbopogon densiflorus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon princeps</i> Stapf.
<i>Cymbopogon dependens</i> B.K. Simon	<i>Cymbopogon procerus</i> A. Camus
<i>Cymbopogon dieterlenii</i> Stapf ex Phillips	<i>Cymbopogon procerus</i> var. <i>genuinus</i> Domin.
<i>Cymbopogon diplandrus</i> De Wild.	<i>Cymbopogon procerus</i> var. <i>procerus</i> (R.Br.)
<i>Cymbopogon distans</i> (Steud.) Wats.	<i>Cymbopogon procerus</i> var. <i>schultzii</i> (Hack.) Domin
<i>Cymbopogon divaricatus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon prolixus</i> (Stapf) Phillips
<i>Cymbopogon eberhardtii</i> A. Camus.	<i>Cymbopogon prostratus</i> Sweet
<i>Cymbopogon effusus</i> A. Camus.	<i>Cymbopogon proximus</i> Stapf.
<i>Cymbopogon elegans</i> Spreng.	<i>Cymbopogon proximus</i> var. <i>sennarensis</i> (Hochst.) Tackholm
<i>Cymbopogon exaltatus</i> A. Camus.	<i>Cymbopogon pruinosis</i> Chiov.
<i>Cymbopogon exaltatus</i> var. <i>ambiguus</i> Domin.	<i>Cymbopogon pubescens</i> (vis) Fritsch.
<i>Cymbopogon exaltatus</i> var. <i>exaltatus</i> (R.Br) Domin.	<i>Cymbopogon queenslandicus</i> S.T. Blake
<i>Cymbopogon exaltatus</i> var. <i>genuinus</i> Domin.	<i>Cymbopogon quinhonensis</i> (A. Camus) S.M. Phillips and S.L. Chen.
<i>Cymbopogon exaltatus</i> var. <i>gracilior</i> Domin.	<i>Cymbopogon ramnagarensis</i> B.K. Gupta
<i>Cymbopogon exaltatus</i> var. <i>lanatus</i> (R.Br) Domin.	<i>Cymbopogon rectus</i> A. Camus
<i>Cymbopogon exarmatus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon reflexus</i> Roem and Schult.
<i>Cymbopogon excavatus</i> Stapf.	<i>Cymbopogon refractus</i> A. Camus
<i>Cymbopogon familiaris</i> De Wild	<i>Cymbopogon rufus</i> Rendle

-
- Cymbopogon figarianus* Chiov.
Cymbopogon filipendulus Rendle
Cymbopogon finitimus Rendle
Cymbopogon flexuosus (Nees ex Steud.) Will. Watson
Cymbopogon flexuosus var. *assamensis* S.C. Nath and K.K. Sarma
Cymbopogon floccosus Stapf
Cymbopogon foliosus Roem and Schult.
Cymbopogon gazensis Rendle
Cymbopogon gidarba [Buch–Ham. ex Steud.] Haines
Cymbopogon giganteus Chiov.
Cymbopogon glandulosus Spreng.
Cymbopogon glaucus Schult.
Cymbopogon globosus Henrard.
Cymbopogon goeringii A. Camus
Cymbopogon goeringii var. *hongkongensis* S. Soenarko
Cymbopogon gratus Domin.
Cymbopogon hamatulus A Camus
Cymbopogon hirtus Stapf ex Burt Davy
Cymbopogon hirtus subsp. *villosum* (Pignatti) Pignatti
Cymbopogon hispidus Griff.
Cymbopogon hookeri (Munro ex Hackel) Stapf ex Bor.
Cymbopogon humboldtii Spreng.
Cymbopogon jinshaensis R. Zhang and C.H. Li
Cymbopogon jwarancusa Schult.
Cymbopogon jwarancusa subsp. *olivieri* (Boiss.) S. Soenarko
Cymbopogon kapandensis De Wild.
Cymbopogon khasianus (Hackel) Stapf ex Bor.
Cymbopogon ladakhensis B.K. Gupta
Cymbopogon lanatus Roberty
Cymbopogon ruprechtii (Hack.) Rendle
Cymbopogon scabrimarginatus De Wild.
Cymbopogon schimperi Rendle
Cymbopogon schoenanthus Spreng.
Cymbopogon schoenanthus subsp. *velutinus* Cope
Cymbopogon schultzii Roberty
Cymbopogon sennaarensis Chiov.
Cymbopogon setifer Pilg.
Cymbopogon siamensis Bor.
Cymbopogon Soenarko (Phillips and Hua 2005)
Cymbopogon solutus Stapf.
Cymbopogon stipulatus Chiov.
Cymbopogon stolzii Pilg.
Cymbopogon stracheyi (Hookf.) Raizada and Jain
Cymbopogon strictus Bojer.
Cymbopogon stypticus Fritsch.
Cymbopogon suaveolens Pilger
Cymbopogon subcordatifolius De Wild.
Cymbopogon tamba Rendle
Cymbopogon tenuis Gilli
Cymbopogon thwaitesii (Hookf.) Willis
Cymbopogon tibeticus Bor.
Cymbopogon tortilis (Presl.) A. Camus
Cymbopogon tortilis subsp. *goeringii* (Steud.) TKoyama
Cymbopogon traninhensis (A. Camus) Soenarko
Cymbopogon transvaalensis Stapf ex Burt Davy
Cymbopogon tungmaiensis L. Liu
Cymbopogon umbrosus Pilg.
Cymbopogon validus Stapf ex Burt Davy
-

Cymbopogon laniger Duthie

Cymbopogon lecomtei Rendle

Cymbopogon lepidus (Nees) Chiov.

Cymbopogon liangshanensis S.M. Phillips and S.L. Chen.

Cymbopogon lividus (Thwaites) Willis

Cymbopogon luembensis De Wild.

Cymbopogon mandalaiaensis Soenarko

Cymbopogon marginatus Stapf ex Burtt Davy

Cymbopogon vanderystii De Wild.

Cymbopogon versicolor (Nees ex Steud.) Will Watson

Cymbopogon virgatus Stapf ex Bor.

Cymbopogon virgatus Stapf ex Rhind.

Cymbopogon welwitschii Rendle

Cymbopogon winterianus Jowitt ex Bor.

Cymbopogon xichangensis R. Zhang and B.S. Sun

Cymbopogon cambodgiensis E.G. Camus and A. Camus
