

Caracterização química e atividades antioxidante e antifúngica do óleo essencial das flores de [*Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank.) Pilger] (*Bixaceae*)

Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho^[1], Wendel Cruvinel de Sousa^[2], Carlos Frederico de Souza Castro^[3]

[1] astronomoamadorgoias@gmail.com. [2] wendelcruvinel@gmail.com. [3] carlosfscastro@gmail.com. IF Goiano, Campus Rio Verde.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo caracterizar o perfil químico e físico-químico e as atividades antioxidante e antifúngica do óleo essencial das flores de *Cochlospermum regium*. As flores foram coletadas em área de Cerrado ripário. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em Clevenger. Foram avaliados os parâmetros organolépticos (cor, visual e aroma) para físico-química, rendimento (%), solubilidade, rotação óptica (α_D), índice de refração (20 °C) e densidade (25 °C g mL⁻¹). A atividade antioxidante foi determinada por redução do radical livre DPPH, e a atividade antifúngica, determinada através da porcentagem de inibição de crescimento sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Aspergillus flavus*. O óleo essencial das flores de *C. regium* apresentou um líquido oleoso, límpido, cristalino e fortemente aromático, rendimento de 0,099%, solubilidade positiva, rotação óptica +36,1 α_D , índice de refração 1,3297 20 °C, densidade relativa de 0,933 g mL⁻¹ 25 °C. O perfil químico apresentou os seguintes compostos majoritários: ocimeno <(E)- β -> com 15,87%, cariofileno E 11,53%, γ -muuroloeno 20,07%, biciclogermacreno 16,11% e rosifoliol com 31,09%. A atividade antioxidante apresentou alta eficiência na redução do radical DPPH em todas as concentrações entre 50 mg mL⁻¹ e 0,031 mg mL⁻¹, entre 95,25% e 40,09%. A atividade antifúngica apresentou 100% de inibição micelial nas concentrações 100 μ L mL⁻¹ e 50 μ L mL⁻¹ para *S. sclerotinia*, *C. gloeosporioides* e *A. flavus*. Na menor concentração de 1,56 μ L mL⁻¹, foi observado ainda inibição para *S. sclerotiorum* e *A. flavus*, e de 3,13 μ L mL⁻¹, para *C. Gloeosporioides*, com 26,12%, 6,08% e 10,07%, respectivamente. O óleo essencial das flores de *C. regium* demonstrou ser um eficiente produto natural para o desenvolvimento de medicamentos, como agente antioxidante e antifúngico para uso agrícola.

Palavras-chave: Antioxidante. *Aspergillus flavus*. *Sclerotinia sclerotiorum*. *Cochlospermum*. *Bixaceae*.

ABSTRACT

The objective of this work was to characterize the chemical and physicochemical profile, and the antioxidant and antifungal activities of the essential oil from *Cochlospermum regium* flowers. The flowers were collected in a riparian Cerrado area. The essential oil was extracted by hidrodestillation in Clevenger. The organoleptic parameters were evaluated for (color, visual and aroma), for physicochemical, yield (%), solubility, optical rotation (α_D), refractive index (20 °C) and density (25 °C g mL⁻¹). Antioxidant activity were determined by the reduction of free radical DPPH, and the antifungal activity was determined through the percentage of growth inhibition on *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Aspergillus flavus*. The essential oil from *C. regium* flowers had an oily, clear, crystalline and strongly aromatic liquid, yield of 0.099%, positive solubility, optical rotation +36.1 α_D , refractive index 1.3297 20 °C, relative density of 0.933 g mL⁻¹. The chemical profile showed the following major compounds ocimene<(E)- β -> with 15.87%, caryophyllene E 11.53%, γ -muuroloene 20.07%, bicyclogermacrene 16.11% and, rosifoliol with 31.09%. The antioxidant activity showed high efficiency in reducing of the DPPH radical in all concentrations varied between 50 to 0.031 mg mL⁻¹ between 95.25% to 40.09%. The antifungal activity showed 100% of mycelial inhibition in 100 and 50 μ L mL⁻¹ concentrations for *S. sclerotinia*, *C. gloeosporioides* and *A. flavus*. In the lowest concentration of 1.56 μ L mL⁻¹ inhibition was also observed for *S. sclerotiorum* and *A. flavus* and for 3.13 μ L mL⁻¹ for *C. gloeosporioides* with 26.12; 6.08 and 10.07%, respectively. The essential oil of the flowers from *C. regium* proved to be an efficient natural product for the development of medicines, as an antioxidant agent and, antifungal for agricultural use.

Keywords: Antioxidant. *Aspergillus flavus*. *Sclerotinia sclerotiorum*. *Cochlospermum*. *Bixaceae*.

1 Introdução

O domínio Cerrado é o segundo maior em área territorial e em espécies da flora e fauna brasileira, ocupando em torno de 23% do território nacional. Atualmente, é considerado um domínio de transição entre os mais variados biomas brasileiros (NETO; DE MORAIS, 2003). De acordo com Bueno *et al.* (2018) e Mendonça *et al.* (1998), as várias fitofisionomias desse ambiente apresenta cerca de 11.000 espécies de vegetais nativos, das quais 4.400 são endêmicas (MYERS *et al.*, 2000). Essa rica variedade vegetal está distribuída em cerca de 170 Famílias e mais de 1.140 gêneros botânicos. A cada ano, novas espécies vegetais são classificadas neste domínio com exuberante e rica fitofisionomias. Entre as inúmeras espécies de plantas que caracterizam o Cerrado, várias são descritas como possíveis produtoras de metabólitos secundários de uso fitoterapêutico, os quais podem ser encontrados nos diferentes órgãos vegetativos, desde os rizomas até as sementes (ANDRADE *et al.*, 2012; BARBOSA, PEREIRA, FORTUNA, 2017; CAMILLO *et al.*, 2009).

O *Cochlospermum regium*, conhecido popularmente por algodão-do-cerrado, é uma das espécies que possuem como um dos metabólitos secundários os óleos essenciais (OEs) distribuídos em várias partes dos órgãos vegetativos. O *C. regium* pertence à Família Bixaceae, sendo encontrado em ambientes de Cerrado *sensu stricto*, rupestre, ralo, típico, cerradão e em áreas antropomorfizadas, na beira de estradas de terra (SÓLON *et al.*, 2012). Esta espécie apresenta-se como um subarbusto com até 2 m de altura; seus ramos possuem tamanho médio entre 0,8 m e 1,8 m de comprimento; o rizoma é robusto e do tipo lenhoso; as folhas são alternadas, simples, longo-pecioladas e palmatificadas; as flores apresentam forma de concha, com inflorescências entre 5 e 10 flores, cujos tamanhos variam entre 6 cm e 8 cm de diâmetro; os frutos têm forma de cápsula deiscente ovoide ou elipsoide, com cerca de 6 cm de comprimento e com sementes envoltas em filamentos lanosos (CAMILLO *et al.*, 2016).

Pouco se conhece sobre a constituição química dos OEs dessa espécie, e existe apenas um trabalho que avalia o OE das flores de *C. regium*. Nos estudos de Brum *et al.* (1997), os pesquisadores avaliaram o OE extraído do rizoma e observaram importante atividade antimicrobiana. Já nos estudos de Rouquayrol *et al.* (1980), os pesquisadores avaliaram o OE extraído das folhas e o testaram na verificação da ação moluscicida, no entanto, não obtiveram resultados positivos. Um grande número de estudos que avaliam ações como anti-inflamatória,

analgésica, antibacteriana e de atividade antioxidante são concentrados a partir dos extratos do rizoma de *C. regium* (ANDRADE *et al.*, 2008; MENEZES FILHO *et al.*, 2020a; SÓLON, BRANDÃO, SIQUEIRA, 2009).

Compostos naturais como os OEs são produzidos naturalmente pelas plantas como respostas fisiológicas e são caracterizados como metabólitos secundários. Esses metabólitos podem sofrer variação por fatores intrínsecos ou extrínsecos, sendo os mais citados: sazonalidade, luminosidade, ataque por insetos, herbívoros e fitopatógenos. Os teores destes compostos podem apresentar variação em diferentes anos durante avaliação do comportamento cinético em um estudo (GOBBO-NETO, LOPES, 2007; MENEZES FILHO, CASTRO, 2020; SOUZA *et al.*, 2011).

Os compostos químicos que constituem o OE, bem como as atividades antioxidante e antifúngica, são também influenciados pelas variações de produção dos metabólitos primários e secundários no vegetal. Ao mensurar os constituintes químicos de OEs em diferentes períodos, sazonalidades ou mesmo horários de coleta, pode-se interferir tanto positivamente quanto negativamente nas concentrações dos compostos, influenciando todo o processo (LEAL *et al.*, 2001; PEREIRA, CARDOSO, 2012).

A atividade antioxidante promovida pelos OEs vem ganhando atenção na comunidade científica. Isso porque os OEs são eficientes agentes antioxidantes no sequestro de radicais livres que produz ações deletérias nas células vivas, ocasionando mudanças descontroladas na molécula do DNA ou RNA celular, o que, por sua vez, provoca inúmeros tipos de cânceres, envelhecimento precoce da pele, cirrose, arteriosclerose e artrite reumatoide. Essas são algumas das doenças correlacionadas ao stress oxidativo (DE MORAIS *et al.*, 2006). Outra importante ação dos OEs é sobre a atividade fungicida, visto que, atualmente, os produtos antifúngicos são compostos sintéticos e, muitas das vezes, prejudiciais aos organismos vivos, bem como podem causar sérios problemas ambientais a médio e longo prazo. Com isso, o uso dos OEs também como possíveis agentes antifúngicos e fungistáticos são exaustivamente testados, visando o desenvolvimento de novos produtos com características moleculares naturais que promovam a qualidade de vida e um ambiente mais saudável.

Anualmente, a agricultura tanto no campo quanto no armazenamento de grãos e produtos perecíveis, como frutas, hortaliças e legumes, é constantemente atacada por fungos fitopatógenos como o mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), a antracnose (*Colletotrichum*

gloeosporioides) e a podridão cinzenta ocasionada pelo *Aspergillus flavus*. Esses ataques representam uma considerável perda econômica para a área agrícola, atingindo, diretamente e indiretamente, culturas de milho, soja, grãos-de-bico, algodão, nozes, além de fruticulturas como mamão, morango, abacate e maracujá (AMAIKE, KELLER, 2011; MARTINAZZO, OLIVEIRA, TEODORO, 2019). Este último fitopatógeno – *A. flavus* –, além de ocasionar perdas de produção agrícola, também gera, através do seu metabolismo, a micotoxina, uma toxina perigosa que causa intoxicação em humanos e em animais, podendo ser mortal em casos específicos (JAHANIAN et al., 2016; MARTINAZZO, OLIVEIRA, TEODORO, 2019; MISHRA, DUBEY, 1994).

Diante desse contexto, este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil químico e as atividades antioxidante e antifúngica promovidas pelo óleo essencial das flores de *Cochlospermum regium* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Aspergillus flavus*.

2 Referencial teórico

De acordo Sólón, Brandão e Siqueira (2009), o gênero *Cochlospermum* Kunth. estava integrado na Família *Cochlospermaceae* Engler (classe: Dicotyledoneae De Candolle), possuindo cerca de 11 espécies distribuídas nas Américas e na África. Entretanto, ocorreu atualização filogenética quanto à integração do gênero na Família *Bixaceae*, e não na Família *Cochlospermaceae* (BARROSO et al., 1991; SOUZA, LORENZI, 2005).

O algodão-do-cerrado ou algodãozinho do cerrado, como é chamado [*Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank.) Pilger] – *Bixaceae*, é considerado uma planta medicinal, ornamental e em risco de extinção, cujo rizoma apresenta estudos com importantes ações fitoterapêuticas (CAMILLO et al., 2009). Os povos de diferentes classes econômicas, principalmente as mais baixas, procuram nos vegetais meios de aliviarem e curarem suas doenças. Com isso, a busca pelo *C. regium* é exaustivamente constante, visto que este alivia e trata os sintomas de infecções uterinas, intestinais, ovarianas, problemas gástricos, artrite e dermatoses. No entanto, infelizmente, o extrativismo predatório vem diminuindo consideravelmente as colônias de *C. regium* em seu ambiente natural. Com isso, a espécie passou a fazer parte da lista de plantas medicinais em risco de extinção (SOLÓN; BRANDÃO; SIQUEIRA, 2009).

O órgão subterrâneo do *C. regium* atualmente é o mais estudado quanto às suas características fitomedicinais. Pesquisas demonstraram que o extrato das raízes dessa planta apresenta o flavonoide caempferol (F-52), que possui atividade analgésica, antibacteriana e um eficiente agente antioxidante e citotóxico (LIMA et al., 1995; OLIVEIRA et al., 1996; SÓLON et al., 2012; TOLEDO et al., 2000). Assim como outros compostos isolados, dihidrocaempferol 3-*O*- β -glucopiranosídeo (5) apresenta atividade antibactericida (RITTO; KATO, 1998), além de acetofenona 1-hidroxitetradecanona-3, um éster de ácido *p*-hidroxicinâmico e naringenina, que também são encontrados no vegetal. Estes, entre outros compostos produzidos em todos os órgãos do vegetal, são caracterizados por compostos do metabolismo secundário com atividades terapêuticas.

Os OEs formam uma classe distinta de compostos ricos em grupos químicos como monoterpenos, diterpenos, triterpenos e sesquiterpenos, oxigenados ou hidrocarbonados, bem como fenilpropanóides (MENEZES FILHO; CASTRO, 2020). Nos estudos de Brum et al. (1997), os pesquisadores identificaram a presença de compostos voláteis – óleo essencial (OE) – na raiz de *C. regium*, apresentando como composto majoritário o β -selineno, com 34,1%, e compostos com menores áreas de retenção: elemeno, 5,4%; *Trans*-cariofileno, 4,8%; α -pineno, 3,4%; α -humuleno, 2,8%; aromadendreno, 2,1%; α -selineno, 1,2%; e δ -cadieno, com 0,8%.

Os OEs podem ser extraídos de sementes, frutos, flores, folhas, galhos, cascas, raízes, resinas e tubérculos (POMBO et al., 2018). Esta classe de compostos voláteis apresenta inúmeras moléculas com atividades antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas, antitumorais e antivirais (SANTOS et al., 2010). O óleo pode agir individualmente ou em sinergismo *in vitro* ou *ex vivo*, como por exemplo, aplicado com função de captura de radicais livres (atividade antioxidante) na redução dos radicais livres DPPH, ABTS⁺, FRAP e ORAC, ou como agente fungicida natural no combate de *Sclerotinia sclerotiorum* (mofo-branco), *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnose) e *Aspergillus flavus* (micotoxina), que todos os anos causam perdas significativas na produção de grãos e frutas e no armazenamento destes (XAVIER et al., 2016).

De acordo com Hirata, Sato e Santos (2004), os radicais livres são constituídos por um átomo ou pela associação de átomos, possuindo um elétron desemparelhado orbitando a zona mais externa da eletrosfera. A formação de compostos radicalares

conduz ao estresse oxidativo, alterando a conformação de proteínas, aminoácidos e desencadeando problemas genéticos que estão intimamente ligados a doenças de pele e a vários tipos de cânceres.

Os radicais mais comuns são o oxigênio e o nitrogênio. Além destes, vale mencionar o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), a hidroxila ($\bullet OH$) e a lipoperoxila (LOO^{\bullet}), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ácido hipocloroso (HClO), o óxido nítrico (NO^{\bullet}) e o ânion peroxinitrito ($ONOO^{\bullet}$). Estes radicais, em excesso, desencadeiam lesões a nível celular como a peroxidação dos lipídeos, a inativação enzimática e a ativação excessiva dos genes pró-inflamatórios (FERRARI, FRANÇA, HONORIO-FRANÇA, 2009; GUTTERIDGE, HALLIWELL, 2010; SILVA, FERRARI, 2011).

Inúmeras espécies fúngicas causam, anualmente, grandes perdas econômicas no plantio de grãos, como soja, milho, sorgo, e de frutas, como abacate, laranja, mamão, banana e morango. O mofo-branco [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary] produz estruturas de resistência conhecidas por escleródios, que persistem no ambiente por vários anos (FREDDO *et al.*, 2016). No vegetal, o *S. sclerotiorum* produz lesões de coloração branca a marrom, e os órgãos da planta apresentam-se embebidas em água e micélio de cor branca, que cobre as partes do tecido vegetal próximo ao solo (SILVA *et al.*, 2018).

O *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnose), em frutas como o mamão, a manga, a banana, o tomate e o morango, produz o apodrecimento dos frutos onde apresentam coloração preto-acinzentada. Essas perdas ocorrem ainda durante o desenvolvimento do fruto e ao longo da cadeia produtiva e de distribuição, diminuindo o tempo de vida de prateleira do produto (BAGHERABADI, ZAFARI, GHOBADI ANVAR, 2018; PARDO-DE LA HOZ *et al.*, 2016). Outros fungos, como o *Aspergillus flavus*, produzem micotoxinas (aflatoxina) encontradas principalmente nos grãos de amendoim, milho, algodão e nozes que podem causar intoxicação em humanos e em animais que se alimentam dos grãos e/ou da ração (MARTINAZZO, OLIVEIRA, TEODORO, 2019; SAMSON *et al.*, 2014). Conforme Jahanian *et al.* (2016) e Selim, El-Hofy e Khalil (2014), a presença de aflatoxina na ração para piscicultura e avicultura causa perda de ganho de peso e pode desencadear problemas a nível celular, com o desenvolvimento de tumores cancerígenos em humanos.

3 Método da pesquisa

As flores de *Cochlospermum regium* foram coletadas no mês entre setembro e outubro de 2018, em área de Cerrado com fitofisionomia ripário, localizada na Igrejinha da Capa-Branca, município de Rio Verde-GO, com a seguinte coordenada geográfica: 17°58'35.6''S 50°44'25.2''W. O material vegetal foi coletado nas primeiras horas do dia, entre as 6 h e as 9 h. O material floral foi armazenado em sacos plásticos de cor preta e mantido em um cooler resfriado com gelo. Em seguida, foi encaminhado para o laboratório de Química de Produtos Naturais para o processo de extração do óleo essencial. Uma excisata foi herborizada e depositada no herbário do IF Goiano, com o Voucher HRV: 844b.

Para extração e rendimento do óleo essencial, as flores foram pesadas em triplicata, em que, para cada alíquota, pesou-se cerca de 150 g de amostra. Em seguida, as flores foram trituradas em processador doméstico com 500 mL de água destilada. O processo de extração foi realizado em aparato tipo *Clevenger* por 3 horas em refluxo. O hidrolato foi coletado e separado com 3 lavagens utilizando 30 mL de diclorometano (Alphatec, P.A – ACS). Logo após, as frações foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro (Fmaia, P.A – ACS). Posteriormente, a solução foi filtrada em papel de filtro quantitativo faixa azul (Unifil, C42). O sistema ficou em local escuro com temperatura de 25 °C até completa evaporação do solvente. O óleo, então, foi recolhido e sua massa determinada em balança analítica digital (Marte, Mod. WB 220), sendo o rendimento expresso em (%) de óleo essencial (m/v) conforme Equação 1.

$$\% \text{ Rendimento} = (OE/PMfv) \times 100 \quad (1)$$

Em que: OE = óleo extraído; PMfv = peso matéria fresca vegetal.

A solubilidade do OE foi avaliada em uma solução hidroetanólica 70% (v/v). Em tubo Eppendorf, foi acrescida uma alíquota de 100 μL da desta solução, com 2 μL do OE das flores de *C. regium*. O tubo foi homogeneizado em aparato tipo Vortex a 300 rpm por 5 min, e, em seguida, foi observada a solução. O ensaio de índice de refração foi realizado utilizando equipamento refratômetro (Hanna Instruments, Mod. HI96800) com índice de refração entre 1,3330 e 1,5080, resolução de 0,0001 a 20 °C. A

rotação óptica foi realizada em equipamento polarímetro (Novainstruments, Mod. WXG-4) com faixa de aferição entre -180° e $+180^\circ$ na escala de Vernier. Foi preparada uma solução a 10% do OE em etanol (LS Chemicals, P.A – ACS) em uma célula de 10 mL. A densidade relativa foi realizada em picnômetro de 1 mL (RBR). A massa do OE foi determinada em balança analítica digital, e o resultado expresso em g mL^{-1} a 25°C , conforme proposto por Alarcón Conde e Méndez (2019).

A análise dos constituintes químicos do óleo essencial foi realizada em sistema de cromatógrafo a gás com espectrômetro de massas (CG-EM), equipado com autoinjeter (Combi PAL AOC-5000 Shimadzu), coluna Restek Rtx-5ms (30m x 0,250 mm x 0,25 μm) fundida com sílica. Foi utilizado o espectrômetro de massas (MSTQ8030 Shimadzu) com detector por ionização em impacto eletrônico (IE) (70 eV). A temperatura inicial foi mantida a 60°C por 3 min, seguido de um acréscimo de 3°C min^{-1} até atingir 200°C e, posteriormente, foi programada para um aumento de temperatura de $15^\circ\text{C min}^{-1}$ até 280°C , permanecendo nessa temperatura por mais 1 minuto.

As temperaturas do injeter e do detector foram de 250°C e 300°C . As análises foram realizadas utilizando gás He com pressão de injeção de 57,4 kPa e fluxo de 3 mL min^{-1} . A identificação dos componentes do óleo volátil foi baseada no índice de retenção linear (Índice de Kovats) (IK), calculado em relação aos tempos de retenção da série homóloga de *n*-alcanos (C-08 a C-40) padrão (Sigma-Aldrich), e no padrão de fragmentação observado nos espectros de massas a partir do cromatograma de íons totais, por comparação destes com a literatura de Adams (2007), e da espectroteca (NIST 11) do equipamento CG-EM.

O óleo essencial da flor de *C. regium* foi avaliado quanto à capacidade antioxidante, pelo método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). O método por DPPH seguiu conforme descrito por Mezza *et al.* (2018), adaptado para uso em microplaca de 96 poços em microdiluições. Para cada poço, foram adicionados 100 μL de uma solução diclorometânica de DPPH $0,06\text{ mMol mL}^{-1}$, e 100 μL de uma solução diclorometânica de óleo essencial em diferentes concentrações decrescentes (50 a $0,031\text{ mg mL}^{-1}$).

A microplaca foi mantida em repouso em local ao abrigo da luz e calor por 2 horas. Logo em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro de microplacas (Polaris, Mod. EE) no comprimento de ondas em 517 nm. A capacidade porcentual de sequestro do radical livre DPPH foi calculada conforme Equação 2.

$$\% \text{ Red} = ((AC - AS)/AC) \times 100 \quad (2)$$

Em que: AC = absorção da solução controle; AS = absorções das soluções de óleos essenciais contendo o radical DPPH.

Os isolados de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Aspergillus flavus* foram mantidos em meio batata, dextrose e ágar (BDA) (Kasvi). As cepas foram doadas pelo Laboratório de Química de Produtos Naturais e de Química Tecnológica do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde-GO. Os isolados foram coletados em campos de cultura de soja, na fruticultura de mamoeiros e no bagaço de cana-de-açúcar, e mantidos no banco micológico do Laboratório de Química Tecnológica.

A atividade antifúngica do óleo essencial da flor de *C. regium* sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, *C. gloeosporioides* e *A. flavus* foi avaliada através de diferentes concentrações, partindo de $100\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$ (óleo puro); $50\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$; $25\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$; $12,5\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$; $6,25\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$; $3,13\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$ e $1,56\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial diluído em dimetilsulfóxido (DMSO (Vetec, P.A – ACS). Como controle negativo, utilizou-se a testemunha (ausência de óleo essencial) e DMSO, e como controle positivo, o fungicida Frowcide® 500 SC (princípio ativo Fluazinam 500 g L^{-1}), registro no Ministério da Agricultura nº. 7695, na concentração de $10\text{ }\mu\text{L mL}^{-1}$.

As concentrações do óleo essencial foram adicionadas ao meio de cultura BDA após esterilização e resfriamento, bem como para os tratamentos com fungicida comercial e DMSO. Após solidificação do meio, em câmara de fluxo laminar (Marconi, Mod. MA 1550), foi adicionado, no centro da placa com ágar, 1 disco de micélio para cada cepa de *S. sclerotiorum*, *C. gloeosporioides* e *A. flavus* com 7 mm de diâmetro, separadamente. Em seguida, as placas de Petri de 10 cm foram incubadas (Nova Instruments, Mod. NI 1523i) nas temperaturas de 20°C , 23°C e 25°C respectivamente, conforme descrito por Menezes Filho *et al.* (2020b) e Garcia *et al.* (2012).

A avaliação da inibição de crescimento consistiu em medições diárias do diâmetro das colônias, com auxílio de um paquímetro digital (Digimess, Mod. 100-174BI), 150 mm com resolução de 0,01 mm. A aferição iniciou-se após 24 horas do início da incubação e foi encerrada quando as colônias fúngicas do tratamento testemunha atingiram completamente a área interna da placa de Petri. A determinação do percentual de inibição de crescimento micelial foi realizada conforme Equação 3 (na próxima página), proposta por Garcia *et al.* (2012).

$$PCI = (DTT - DTQ)/DTT \times 100 \quad (3)$$

Em que: PCI = percentual de inibição de crescimento; DTT = diâmetro no tratamento testemunha; DTQ = diâmetro no tratamento químico.

A determinação do rendimento de extração do óleo essencial, dos ensaios físico-químicos e das atividades antioxidante e antifúngica foi realizada em triplicata, exceto para atividade antifúngica, que foi feita em quadruplicata seguidas de \pm desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e, para determinação da diferença significativa entre os tratamentos, foi utilizado teste de Tukey ($p \leq 0,05$). O software estatístico utilizado foi o Past 3 (versão livre, 3.22, 2018).

4 Resultados da pesquisa

A Figura 1 retrata a flor de *C. regium* e seu respectivo OE extraído por hidrodestilação

Figura 1 – Flor de *Cochlospermum regium* em Cerrado ripário e seu respectivo óleo essencial extraído



Fonte: autores

O período de floração observado para *C. regium* neste estudo foi entre setembro e outubro de 2018. Menezes Filho *et al.* (2020a) encontraram flores de *C. regium* no mês de maio de 2020 em área de Cerrado sentido restrito, no município de Rio Verde-GO.

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados organolépticos e físico-químicos do OE das flores de *C. regium*.

As características organolépticas são consideradas comuns para os vários tipos de OEs de plantas distintas da Família *Bixaceae*. O rendimento do óleo essencial das flores de *C. regium* é considerado bom quando

comparado ao de outros estudos avaliando o teor de óleo essencial de *Cochlospermum*. Menezes Filho *et al.* (2020c), encontraram rendimento de 0,10% para o OE das flores de *C. regium* em uma área de Cerrado sentido restrito. A solubilidade positiva é observada também em vários outros estudos avaliando OEs. A rotação óptica, índice de refração e densidade relativa também apresentam resultados próximos aos observados em distintos OEs de vegetais (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros organolépticos e físico-químicos do óleo essencial da flor de *Cochlospermum regium*

| Parâmetros | OE* |
|--|---|
| Organolépticos | Líquido oleoso límpido e cristalino, homogêneo, visual amarelo claro e fortemente aromático |
| Rendimento (%) | 0,096% \pm 0,02 |
| Solubilidade (v/v) | Positiva |
| Rotação óptica α_D | +36,1 |
| Índice de refração 20 °C | 1,3297 \pm 0,09 |
| Densidade relativa 25 °C (g mL ⁻¹) | 0,933 \pm 0,04 |

*Parâmetros físico-químicos do óleo essencial da flor de *C. regium*.

Fonte: autores

Na análise do perfil químico por CG-EM, foram observados cinco compostos majoritários: ocimeno <(E)- β ->, com 15,87%; cariofileno E, com 11,53%; γ -muuroleno, com 20,07%; biciclogermacreno, com 16,11%; e rosifoliol, com 31,09%. Já nos estudos de Menezes Filho *et al.* (2020c), os pesquisadores encontraram apenas três compostos majoritários: cariofileno E, com 9,76%; γ -muuroleno, com 16,68%; e biciclogermacreno, com 39,82%.

Os estudos com óleo essencial em *C. regium* são escassos e apresentam um ténue período de publicação; quanto ao órgão floral, ainda pouco se conhece sobre sua fitoquímica.

Vale ressaltar o estudo realizado por Brum *et al.* (1997), no qual os pesquisadores avaliaram os constituintes químicos do OE do rizoma (xilopódio) de *C. regium* por CG-EM e encontraram os seguintes compostos: β -selineno 34,1%, elemeno 5,4%, *Trans*-cariofileno 4,8%, α -pineno 3,4%, α -humuleno 2,8%, aromadendrina 2,1%, α -selineno 1,2% e δ -cadineno 0,8%.

Observa-se variação da porcentagem de área de cada composto volátil neste estudo, e, quando comparada a da pesquisa de Menezes Filho *et al.* (2020c), esta variação pode ser explicada devido a fatores intrínsecos e extrínsecos como solo, pluviosidade,

genética populacional, quimiotipos, irradiação solar, queimadas, ataque por fitopatógenos, entre outros.

Na Tabela 2, estão apresentados os resultados da atividade antioxidante expressos em (%) de redução do radical livre DPPH.

Tabela 2 – Avaliação da porcentagem de atividade antioxidante do óleo essencial da flor de *Cochlospermum regium* sobre o radical livre DPPH em diferentes concentrações em mg mL⁻¹ de óleo essencial diluído

| Concentração (µL mL ⁻¹) | Atividade Antioxidante (%) [*] |
|-------------------------------------|---|
| 50 | 95,21 ± 0,11 ^a |
| 30 | 90,07 ± 0,09 ^a |
| 20 | 88,74 ± 0,10 ^a |
| 7 | 83,55 ± 0,21 ^a |
| 4 | 79,11 ± 0,19 ^a |
| 2 | 75,12 ± 0,26 ^b |
| 0,5 | 57,18 ± 0,31 ^c |
| 0,125 | 48,88 ± 0,56 ^c |
| 0,031 | 40,09 ± 0,16 ^c |

*Óleo essencial das flores *C. regium*. Resultados referem-se à média de três repetições seguidas por (±) desvio padrão. Os resultados na coluna acrescida de letras diferentes apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: autores

A atividade antioxidante foi satisfatória em todas as concentrações avaliadas, em especial naquelas entre 50 mg mL⁻¹ e 0,5 mg mL⁻¹, que apresentaram porcentagem acima de 50% de redução do radical livre DPPH. Os resultados, no entanto, apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), formando três grupos estatisticamente diferentes conforme avaliado pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Menezes Filho *et al.* (2020c) encontraram resultados superiores aos deste estudo avaliando o OE das flores de *C. regium* coletadas em Cerrado sentido restrito, uma vez que obtiveram entre as concentrações 50 mg mL⁻¹ e 2 mg mL⁻¹, resultado de 100% de redução do DPPH.

Sugere-se que os fatores ambientais como tipo de fisionomia do Cerrado (sentido restrito e ripário), fatores climáticos, tipos de solos e grupos de indivíduos de *C. regium*, mesmo que coletados em áreas relativamente pequenas, apresentam rendimento, teores e atividade

antioxidantes diferentes, como observado neste estudo e no de Menezes Filho *et al.* (2020c).

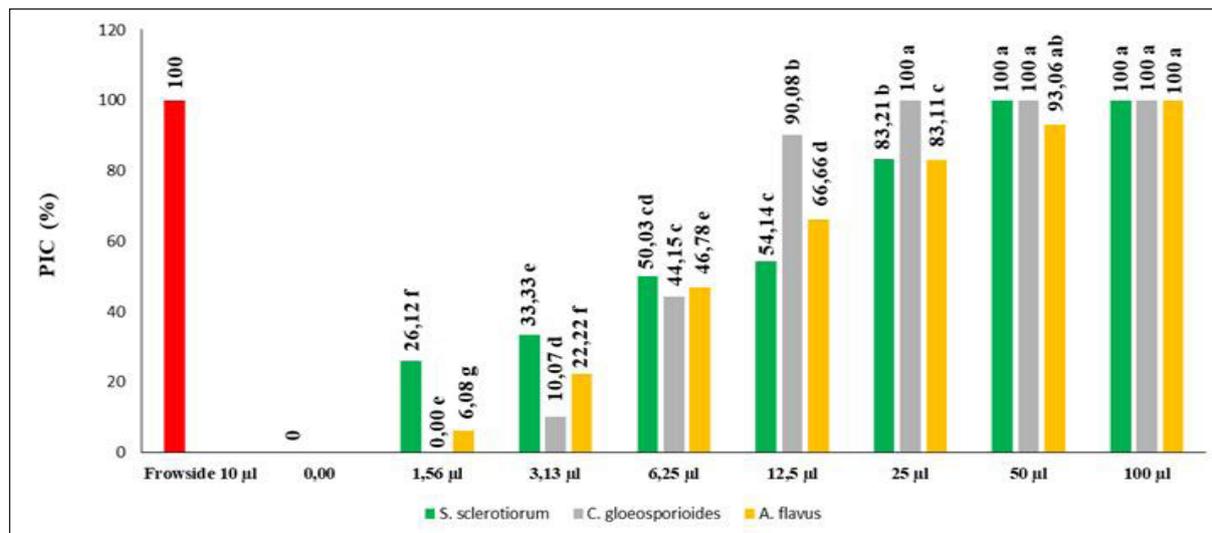
O Gráfico 1 (na próxima página) ilustra a atividade antifúngica do óleo essencial das flores de *C. regium* sobre as cepas de *S. sclerotiorum*, *C. gloeosporioides* e *A. flavus*.

Em relação às porcentagens de inibição do crescimento micelial (PIC) apresentados na Figura 2, ao se compararem as cepas e as concentrações utilizadas do óleo essencial em estudo, verifica-se que as melhores concentrações de inibição foram entre as diluições 100 a 6,25 µL (mL⁻¹) para as três cepas fúngicas. Os resultados do teste (PIC) foram comparados ao controle positivo o fungicida *Frownicide SC 500* na concentração de 10 µL mL⁻¹ com 100% de inibição.

A atividade antifúngica promovida pelo OE sobre *S. sclerotiorum* apresenta diferença estatística, com a formação de quatro grupos estatísticos. Nas concentrações 100 µL mL⁻¹ e 50 µL mL⁻¹ foi obtido 100% de inibição de crescimento, seguida das concentrações intermediárias entre 25 µL mL⁻¹ e 6,25 µL mL⁻¹, com inibição entre 83% µL mL⁻¹ e 50%, e nas menores concentrações de 3,13 µL mL⁻¹ e 1,56 µL mL⁻¹, porcentagem inibitória de 33% e 26%. A concentração de 6,25 µL mL⁻¹ não apresentou diferença significativa pelo teste de Tukey.

Nos estudos de Menezes Filho *et al.* (2020c), os pesquisadores encontraram resultados de inibição entre 79,98% e 0,45% ao avaliarem o OE das flores de *C. regium* sobre o desenvolvimento de *S. sclerotiorum*. Silva *et al.* (2018) avaliaram o OE das folhas de *Psidium guajava* em dois períodos de coleta e obtiveram alta eficiência de inibição micelial sobre *S. sclerotiorum* nas maiores concentrações de 300 µL mL⁻¹ e 200 µL mL⁻¹, com porcentagens de inibição entre 94,9% e 90,0%, e na menor concentração de 100 µL mL⁻¹, com 80% a 77,5%. Já na pesquisa de Xavier *et al.* (2016), na qual avaliaram o óleo essencial das folhas de *C. calophyllum* sobre *S. sclerotiorum*, os pesquisadores obtiveram inibição micelial de 87,63% na maior concentração de OE, de 300 µL mL⁻¹, e de 28,27% na menor concentração, de 50 µL mL⁻¹.

Gráfico 1 – Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) em diferentes concentrações de óleo essencial das flores de *Cochlospermum regium* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Aspergillus flavus*



Letras iguais para cada fungo *versus* concentração não diferenciam entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: autores

A porcentagem de inibição sobre a cepa de *C. gloeosporioides* nas maiores concentrações entre 100 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ apresentou 100% de inibição, seguida pela concentração de 12,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$, com 90%, e nas menores concentrações de 6,25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 3,13 $\mu\text{L mL}^{-1}$, com taxas inibitórias de 44% e 10%. Para a concentração de 1,56 $\mu\text{L mL}^{-1}$ não foi observada inibição micelial; possivelmente devido a sucessivas diluições, esta concentração não influenciou a inibição do fungo. Para este tratamento, foram observados cinco grupos com diferença significativa entre eles pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Dias-Arieira *et al.* (2010), no estudo em que avaliaram a atividade antifúngica dos OEs de nim (*Azadirachta indica*) e de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), obtiveram inibição entre 74,4% e 84,4% e de 35,6% e 9,1%, respectivamente, sobre *C. acutatum*. Já Souza Júnior, Sales e Martins (2009) encontraram satisfatória eficiência de inibição micelial avaliando OEs de alecrim-pimenta, alfavaca-cravo, capim-santo, cidrão e goiaba, obtendo atividade de 100% em diferentes concentrações entre 1 e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$, exceto para o óleo essencial de goiaba, que apresentou porcentagem de inibição baixa e significativa entre 44% e 69%, respectivamente.

Vários estudos avaliam a ação antifúngica de OEs em cepas de *Colletotrichum sp.*, que podem,

individualmente ou em sinergismo, produzir ação antifúngica ou fungistática. Inúmeros compostos como geraniol, isopulegol, 1,8-cineol, estragol, α -pineno e β -pineno, β -cimeno, entre outros, apresentam ação antifúngica comprovada em inúmeros ensaios antifúngicos *in vitro* (DIAS-ARIEIRA *et al.*, 2010; LEE *et al.*, 2007; SOUZA JÚNIOR, SALES, MARTINS, 2009).

Ainda neste estudo, foi avaliada a ação de inibição micelial para *A. flavus* pelo OE da flor de *C. regium* (Figura 1). Observa-se também alta e positiva eficiência de inibição micelial produzida pelo OE das flores de *C. regium*. Para esta cepa, foram formados seis grupos com significativa diferença, exceto para a concentração 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Em todas as concentrações, foi observada ação antifúngica inibindo 100% na maior concentração de 100 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Todas as cepas avaliadas pela PIC do OE das flores de *C. regium* foram comparadas com o fungicida comercial de referência com 100% de PIC na concentração de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Observa-se que o OE apresentou excelentes resultados como agente antifúngico em todas as concentrações acima de 6,25 $\mu\text{L mL}^{-1}$, podendo ser utilizado como promotor fungicida natural.

Martinazzo, Oliveira e Teodoro (2019) avaliaram o OE de *Cymbopogon citratus* no controle de *A. flavus*,

obtendo porcentagem de inibição com maior eficiência na maior concentração de $1,0 \mu\text{L mL}^{-1}$, com 100% entre os dias 1 e 8, e com 86% e 80% nos dias 9 e 10. Entretanto, na menor concentração de $0,2 \mu\text{L mL}^{-1}$, a maior eficiência foi observada no 1º dia, com 100% de inibição; já para os dias 2 a 10, taxas decrescentes variando entre 47% e 11% foram observadas. Mishra e Dubey (1994), por sua vez, obtiveram porcentagem de inibição de 52% em uma concentração de $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ e máxima de 59% na concentração de $0,6 \mu\text{L mL}^{-1}$ para o OE de *C. citratus*. Os pesquisadores ainda apresentam atividade antifúngica de outros OEs com inibição micelial positiva sobre *A. flavus*: *Ageratum conyzoides* 90%; *Acianthera carinata* 80%; *Boswellia serrata* 50%; *Citrus aurantifolia* 80%; *Citrus reticulata* 40%; *Citrus sinensis* 60%; *Curcuma longa* 72%; *Eupatorium cannabinum* 42%; *Hyptis suaveolens* 85%; *Juniperus communis* 45%; *Mentha viridis* 85%; *Pinus* sp. 84% e *Vetiveria zizanioides* 56%.

Os OEs nem sempre inibem o crescimento micelial; eles também podem promover a indução do seu crescimento. Isso foi observado por Valente *et al.* (2018) na pesquisa em que avaliaram o OE de *Callistemon viminalis* extraído das folhas, identificando que este promoveu o desenvolvimento de *A. niger* após 7 dias de incubação. Possivelmente as concentrações utilizadas não foram efetivas para promover a inibição ou algum composto do OE apresenta meios de desenvolvimento para o fungo analisado. Entretanto, obtiveram eficiente taxa de inibição de desenvolvimento das cepas de *Cladosporium herbarium* e *Penicillium expansum* com inibições de 43,1% a 49,4% e de 13,5% a 36,4%, respectivamente.

Além disso, alguns estudos para OEs os apresentam como bons agentes antivirais. Tariq *et al.* (2019) e Allahverdiyev *et al.* (2004) atribuem importante atividade antiviral para alguns vírus com material em RNA e DNA. Estudos demonstraram importante atividade no controle do vírus Herpes simplex (HSV 1 e 2), vírus da dengue tipo (DEN-2), vírus influenza adeno tipo (3), polivírus e para os vírus Junin e Cocksackievirus tipo (B1) utilizando óleo essencial.

5 Conclusão

O óleo essencial da flor de *Cochlospermum regium* apresentou bom rendimento de extração. Foram observados 5 compostos majoritários a partir do perfil químico. As atividades como agente antioxidante na redução do DPPH e como agente antifúngico natural

in vitro demonstraram excepcional resultado de atividades biológicas.

Sugere-se que o óleo essencial das flores de *C. regium* demonstra ser um candidato com alto potencial para novas pesquisas na produção de biofármacos com atividade antioxidante e como agente antifúngico no desenvolvimento de fungicidas naturais de largo espectro.

Trabalhos futuros deverão ser realizados analisando a atividade antifúngica em casas-de-vegetação ou mesmo em campo, avaliando, assim, sua resposta-eficiência como antifúngico ao empregar o óleo essencial em variados ambientes, com diversidades intrínsecas e extrínsecas. Outros estudos poderão ser realizados avaliando o óleo essencial da flor de *C. regium* encapsulado em nano ou micro esferas. Finalmente, por se tratar de uma espécie vegetal e fitoterápica ameaçada de extinção, deve-se produzir conhecimento sobre a domesticação e a preservação do material genético de *C. regium* em diferentes fitofisionomias de Cerrado.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by chromatography/mass spectrometry**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publ., 2007. 811 p.
- ALARCÓN, M. E. T.; CONDE, C. G.; MÉNDEZ, G. L. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 52, n. 1, p. e266, 2019. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=93927>. Acesso em: 19 set. 2020.
- ALLAHVERDIYEV, A. *et al.* Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against *Herpes simplex* virus type-2. **Phytomedicine**, v. 11, n. 7-8, p. 657-661, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.07.014>.
- AMAIKE, S.; KELLER, N. P. *Aspergillus flavus*. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49, n. 1, p. 107-133, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095221>.
- ANDRADE, L. S. *et al.* Absence of antimutagenicity of *Cochlospermum regium* (Mart. and Schr.) Pilger 1924 by micronucleus test in mice. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 1, p. 155-159, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000100022>.

- ANDRADE, M. A. *et al.* Essential oils of *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* and *Zingiber officinale*: composition, antioxidant and antibacterial activities. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902012000200025>.
- BAGHERABADI, S.; ZAFARI, D.; GHOBADI ANVAR. *Colletotrichum gloeosporioides* s. str., the causal agent of a leaf spot disease of *Schefflera arboricola* in Iran. **Mycologia Iranica**, v. 5, n. 1, p. 29-34, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.22043/mi.2019.118404>.
- BARBOSA, C. S.; PEREIRA, R. F.; FORTUNA, J. L. Antifungal activity of the oil of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) against *Candida albicans*. **Revista de Biociências**, v. 23, n. 1, p. 53-60, 2017. Disponível em: <http://periodicos.unitau.br/ojs/index.php/biociencias/article/view/2454>. Acesso em: 21 set. 2020.
- BARROSO, G. M. *et al.* Sistemática de angiospermas do Brasil. 2. ed. [S.l.]: Editora UFV, 1991. 309 p. 2 v.
- BUENO, M. L. *et al.* Flora arbórea do Cerrado de Mato Grosso do Sul. **Iheringia**, v. 73, supl., p. 53-64, 2018. DOI: <https://doi.org/10.21826/2446-8231201873553>
- BRUM, R. L. *et al.* Antibacterial activity of *Cochlospermum regium* essential oil. **Fitoterapia**, v. 68, n. 1, p. 79, 1997. Disponível em: <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=2629772>. Acesso em: 21 set. 2020.
- CAMILLO, J. *et al.* Conservação *in vitro* de *Cochlospermum regium* (Schrank.) Pilg. – *Cochlospermaceae* sob regime de crescimento mínimo. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 184-189, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000200012>.
- CAMILLO, J. *et al.* *Cochlospermum regium* (algodão-do-cerrado). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial**: Plantas para o futuro – Região Centro-Oeste. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2016. 160 p.
- DE MORAIS, S. M. *et al.* Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000500004>.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. *et al.* Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 3, p. 228-232, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052010000300007>
- FERRARI, C. K. B.; FRANÇA, E. L.; HONORIO-FRANÇA, A. C. Nitric oxide, health and disease. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 7, p. 163-173, 2009. DOI: <https://doi.org/10.32725/jab.2009.019>.
- FREDDO, A. R. *et al.* Óleo essencial de *Aloysia citriodora* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em pepino e atividade antifúngica *in vitro*. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 25, n. 4, p. 373-386, 2016. DOI: <https://doi.org/10.32929/2446-8355.2016v25n4p373-386>.
- GARCIA, R. A. *et al.* Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/8174>. Acesso em: 21 set. 2020
- 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. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>
- GUTTERIDGE, J. M.; HALLIWELL, B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 393, n. 4, p. 561-564, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.071>
- HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. de. M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 418-424, 2004. Disponível em: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/6678>. Acesso em: 21 set. 2020.
- JAHANIAN, E. *et al.* Effect of dietary supplementation of mannanoligosaccharides on growth performance, ileal microbial counts, and jejunal morphology in broiler chicks exposed to aflatoxins. **Livestock Science**, v. 190, p. 123-130, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.05.008>.
- LEAL, T. C. A. de. *et al.* Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. **Revista Ceres**, v. 48, n. 278, p. 445-453, 2001. Disponível em: <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/2735>. Acesso em: 21 set. 2020.
- LEE, S. O. *et al.* Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest

and soilborne plant pathogenic fungi. **The Plant Pathology Journal**, v. 23, n. 2, p. 97-102, 2007. DOI: <https://doi.org/10.5423/PPJ.2007.23.2.097>.

LIMA, D. P. *et al.* A flavanone glycoside from *Cochlospermum regium* (Mart. et Schr.) Pilger. **Fitoterapia**, v. 66, p. 545-546, 1995. Disponível em: <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=2953879>. Acesso em: 21 set. 2020.

MARTINAZZO, A. P.; OLIVEIRA, F. S.; TEODORO, C. E. S. Antifungal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil against *Aspergillus flavus*. **Ciência e Natura**, v. 41, n. e20, p. 01-08, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/2179460X36055>

MENEZES FILHO, A. C. P. *et al.* Estudo fitoquímico, bioativo, fotoprotetor e físico-químico do extrato floral de algodãozinho do Cerrado [*Cochlospermum regium* Schrank. (Pilg.)] – *Bixaceae*. **Arquivos Científicos**, v. 3, n. 2, p. 1-13, 2020a. Disponível em: <http://arqcientificosimmes.emnuvens.com.br/abi/article/view/375>. Acesso em: 21 set. 2020.

MENEZES FILHO, A. C. P. *et al.* Comparação química dos óleos essenciais de *Schinus molle* e atividade antifúngica em *Sclerotinia sclerotiorum*. **Colloquium Agrariae**, v. 16, n. 3, p. 115-123, 2020b.

MENEZES FILHO, A. C. P.; CASTRO, C. F. S. Avaliação físico-química e atividade antifúngica do óleo essencial de *Myrcarpus fastigiatus* e óleo-resina de *Copaifera multijuga*. **Arquivos Científicos**, v. 3, n. 1, p. 117-123, 2020.

MENEZES FILHO, A. C. P. *et al.* Perfil químico e atividades antioxidante e antifúngica do óleo essencial da flor de *Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank.) – Pilg. (*Bixaceae*). **Colloquium Agrariae**, v. 16, n. 4, p. 90-102, 2020c. DOI: <https://doi.org/10.5747/ca.v16i4.3066>.

MENDONÇA, R. C. *et al.* Flora vascular do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (eds.). **Cerrado: Ambiente e flora**. Embrapa Cerrado, Planaltina. 1998. p. 287-556.

MEZZA, G. N. *et al.* Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 242, p. 9-15, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.042>.

MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 4, p.

1101-1105, 1994. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/60/4/1101.short>. Acesso em: 21 set. 2020.

MYERS, N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, v. 403, p. 853-858, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1038/35002501>.

NETO, G. G.; DE MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062003000400009>.

OLIVEIRA, C. C. *et al.* Antibacterial Activity of rhizome from *Cochlospermum regium*: preliminary results. **Fitoterapia**, v. 67, n. 2, p. 176-177, 1996. Disponível em: <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=3074261>. Acesso em: 21 set. 2020.

PARDO-DE LA HOZ, C. J. *et al.* Species from the *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum boninense* and *Colletotrichum gloeosporioides* species complexes associated with tree tomato and mango Crops in Colombia. **Plant Pathology**, v. 65, p. 227-237, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12410>

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. das. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Metab%C3%B3litos-sekund%C3%A1rios-vegetais-e-benef%C3%ADcios-and-Pereira/de92e03e1b3192ddbfc1c249a78877717c2a234?p2df>. Acesso em: 21 set. 2020.

POMBO, J. C. P. *et al.* Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018. DOI: <https://doi.org/10.20396/san.v25i2.8651785>

RITTO, J. L. A.; KATO, E. T. M. Estudo morfo-histológico de raízes de algodãozinho-do-campo – *Cochlospermum regium* (Mart. et Schr.) Pilger. **Lecta**, v. 16, n. 2, p. 97-109, 1998. Disponível em: <http://drugstorepdfsearch.com/prp.ueg.br1.html>. Acesso em: 21 set. 2020.

ROUQUAYROL, M. Z. *et al.* Atividade moluscicida de óleos essenciais de plantas do nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Pesquisa Médica Biológica**, v. 13, n. 4-6, p. 135-143, 1980. Disponível em: <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCALZOO LINEIN RA8110060402>. Acesso em: 21 set. 2020.

SAMSON, R. A. *et al.* Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in Mycolgy**, v. 78, p. 141-173, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.004>

SANTOS, G. G. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjeriço frente a bactérias de carnes bovinas. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 4, p. 529-535, 2010. Disponível em: <https://ri.ufs.br/handle/riufs/1525>. Acesso em: 21 set. 2020.

SELIN, K. M.; EL-HOFY, H.; KHALIL, R. H. The efficacy of three mycotoxin adsorbents to alleviate aflatoxin B1-induced toxicity in *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture International**, v. 22, n. 2, p. 523-540, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9661-6>.

SILVA, W. J. M. de.; FERRARI, C. K. B. Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 441-451, 2011. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=403834043004>. Acesso em: 21 set. 2020.

SILVA, E. A. J. *et al.* Chemical composition of the essential oil of *Psidium guajava* leaves and its toxicity against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 865-874, 2018. Disponível em: <http://www.uel.br/seer/index/semagrarias/article/download/27652>. Acesso em: 21 set. 2020.

SÓLON, S.; BRANDÃO, L. F. G.; SIQUEIRA, J. M. de. O gênero *Cochlospermum* Kunth com ênfase nos aspectos etnobotânicos, farmacológicos, toxicológicos e químicos de *Cochlospermum regium* (Mart. et. Schr.) Pilger. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 3, p. 1-22, 2009. DOI: <https://doi.org/10.5216/ref.v6i3.7649>.

SÓLON, S. *et al.* Phenolic derivatives and other chemical compounds from *Cochlospermum regium*. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1169-1172, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000600019>.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxicos de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009. DOI: <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2009v22n3p77>

SOUZA, M. F. de. *et al.* Influência do horário de coleta, orientação geográfica e dossel na produção de óleo essencial de *Cordia verbenaceae* DC. **Biotemas**, v. 24, n. 1, p. 9-14, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2011v24n1p9>.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática-Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, São Paulo: Ed. Plantarum, 2005. 640 p.

TARIQ, S. *et al.* A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 134, p. 103580, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>.

TOLEDO, M. I. *et al.* Acute and subacute toxicity of *Cochlospermum regium* (Mart. et Schr.) Pilger. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 359-361, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200008\)14:5%3C359::AID-PTR642%3E3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200008)14:5%3C359::AID-PTR642%3E3.0.CO;2-0).

VALENTE, P. M. *et al.* Bioprospecção para atividade antifúngica do óleo essencial das folhas de *Callistemon viminalis*. **Nucleus**, v. 15, n. 2, p. 265-270, 2018. Disponível em: <https://www.nucleus.feituverava.com.br/index.php/nucleus/article/view/2967>. Acesso em: 21 set. 2020.

XAVIER, M. N. *et al.* Composição química do óleo essencial de *Cardiopetalum calophyllum* Schltld. (Annonaceae) e suas atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, 2016. Disponível em: <http://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/1452>. Acesso em: 19 set. 2020.