

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

*Casearia sylvestris*: ANÁLISE QUALI-QUANTITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL,  
SUA AÇÃO FUNGICIDA *IN VITRO* SOBRE FITOPATÓGENOS E ESTUDO  
SOBRE RIZOGÊNESE

Amanda Pezzi  
Bióloga/IPA

Dissertação apresentada como um dos requisitos  
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia  
Ênfase Horticultura

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março de 2014



Página de Homologação

*“Com Exceção de Afrodite...não existe nada neste planeta mais adorável que uma flor,  
nem nada mais essencial que uma planta. A verdadeira matriz da vida humana é a vegetação  
que cobre a Terra.*

(Trecho do livro: A Vida Secreta das Plantas, Tompkins & Bird)

# *Casearia sylvestris*: ANÁLISE QUALI-QUANTITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL, SUA AÇÃO FUNGICIDA *IN VITRO* SOBRE FITOPATÓGENOS E ESTUDO SOBRE RIZOGÊNESE<sup>1</sup>

Autor: Amanda Pezzi

Orientador: Magnólia Aparecida Silva da Silva

## RESUMO

A *Casearia sylvestris*, conhecida popularmente como erva-de-bugre, cafezinho-do-mato ou guaçatonga tem distribuição em todo território brasileiro. As folhas, a casca e a raiz possuem ação antisséptica e febrífuga, além da ação cicatrizante. A espécie apresenta óleo essencial que vem sendo vastamente utilizado na farmacologia. Estudos com *C. sylvestris* vem demonstrando que a mesma apresenta potencial para o controle de diversos patógenos. Objetivou-se neste trabalho desenvolver estudos a respeito do efeito da sazonalidade sobre o rendimento e composição do óleo essencial desta espécie e acerca da possível ação antifúngica. Além disso, foram analisadas as características morfo-anatômicas da formação de suas raízes na propagação por estacas semilenhosas. Para a realização do primeiro experimento, folhas de três populações de *Casearia sylvestris*, naturais do Rio Grande do Sul foram coletadas para obtenção do rendimento e composição química de seu óleo essencial nas quatro estações do ano. No segundo experimento foram realizados testes de inibição de crescimento de *Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola* com uso do extrato aquoso e óleo essencial. As concentrações utilizadas de extrato aquoso foram de 80 e 100%, enquanto as de óleo essencial foram de 0%; 1,5% e 2,5%. O terceiro experimento envolveu a análise anatômica do enraizamento de estacas de *C. sylvestris*. Depois de instalado o experimento, as estacas foram avaliadas a cada 15 dias, quando 3 estacas eram retiradas para a realização de cortes histológicos para a análise da origem das mesmas. Os resultados obtidos indicam que a produção sazonal do óleo essencial de *C. sylvestris* sofre alteração em função da estação de coleta, sendo o seu maior rendimento na primavera e no verão. O extrato aquoso da espécie não é capaz de inibir o crescimento micelial de *Botrytis*, *A. alternata*, *A. radicina* e *A. brassicicola* *in vitro* nas concentrações de 80 e 100%. Já o óleo essencial mostrou-se significativamente eficiente na inibição do crescimento micelial *in vitro* na concentração de 2,5% para os mesmos patógenos. No que se refere às características morfo-anatômicas da formação das raízes adventícias de *C. sylvestris*, observou-se que estas são formadas tanto por células do calo quanto por células do câmbio.

---

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (104p.) Março, 2014.

# Casearia sylvestris: QUALITATIVE ANALYSIS OF ESSENTIAL OIL-QUANTITATIVE, FUNGICIDAL YOUR ACTION IN VITRO STUDY ON AND ON PHYTOPATHOGEN RHIZOGENESIS <sup>1</sup>

Author: Amanda Pezzi

Adviser: Magnólia Aparecida Silva da Silva

## ABSTRACT

The *Casearia sylvestris*, popularly known as wort-buggy, coffee of the woods or guaçatonga has great distribution throughout Brazil. The leaves, bark and roots have antiseptic and febrifuge action, beyond presents healing action. The species presents essential oil that has been widely used in pharmacology. Studies with *C. sylvestris* has demonstrated that it has potential to control various pathogens. The objective of this work was to develop studies about the effect of season on the yield and essential oil composition of this specie, although the possible antifungal action. Furthermore, we aimed to analyze the morpho-anatomical characteristics involved in roots formation in asexual propagation by softwood cuttings. To perform the first experiment, leaves of three populations of *C. sylvestris*, natural of Rio Grande do Sul were collected to obtain the yield and composition of essential oil in the four seasons. In the second experiment growth inhibition tests were performed using *Botrytis* spp., *Alternaria alternata*, *Alternaria brassicicola* and *Alternaria radicina* with the use of the aqueous extract and essential oil. The aqueous extract concentrations used were 80 and 100%, while the essential oil were 0%, 1.5% and 2.5%. The third experiment involved the analysis of anatomical rooting of *C. sylvestris*. After installing the experiment, cuttings were evaluated every 15 days, when 3 cuttings were taken for performing histological sections to analyze the origin of the same. The results obtained indicates that the seasonal production of essential oil of *C. sylvestris* suffer alteration due to collection station. The higher yield is in spring and summer. The aqueous extract of the species is not able to inhibit the mycelial growth of *Botrytis*, *A. alternata*, *A. brassicicola* and *A. radicina* in vitro at concentrations of 80 and 100 %. The essential oil was significantly effect in inhibiting the mycelial growth in vitro at a concentration of 2.5% for the same pathogens. About morphological and anatomical characteristics by formation of adventitious roots of *C. sylvestris*, it was observed that these are formed both by callus cells as by cells of the vascular cambium.

---

<sup>1</sup>Dissertation thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (104p.) March, 2014.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 Diversidade vegetal brasileira e suas potencialidades.....	5
2.2 A família Salicaceae e o gênero <i>Casearia</i> Jacq .....	7
2.3 Espécie <i>Casearia sylvestris</i> (Sw.) .....	8
2.4 Plantas Medicinais.....	11
2.4.1 Propriedades medicinais da <i>Casearia sylvestris</i> .....	12
2.5 Óleos essenciais .....	15
2.6 Uso de plantas medicinais no controle de patógenos em plantas.....	19
2.7 Os Fitopatógenos <i>Botrytis</i> sp, <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria brassicicola</i> e <i>Alternaria radicina</i> .....	23
2.7.1 <i>Alternaria</i> sp.....	23
2.7.2 <i>Botrytis</i> sp.....	26
2.8 Propagação vegetativa.....	27
2.8.1 Estaquia.....	28
2.8.2 Anatomia.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 Experimento 1. Rendimento e composição sazonal do óleo essencial de <i>Casearia sylvestris</i> .....	33
3.2 Experimento 2. Controle in vitro de <i>Botrytis</i> sp, <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria radicina</i> e <i>Alternaria brassicicola</i> através de extrato de folhas e óleo essencial de <i>Casearia sylvestris</i> . .....	36
3.2.1 Experimento 2.1. Efeito do extrato aquoso de <i>Casearia sylvestris</i> sobre os patógenos.....	36
3.2.2 Experimento 2.2. Efeito de óleo essencial de <i>Casearia sylvestris</i> sobre os patógenos.....	38
3.3 Experimento 3. Anatomia da formação do desenvolvimento de raízes adventícias em estacas de <i>Casearia sylvestris</i> .....	39

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
4.1 Estudo 1. Rendimento e composição do óleo essencial de <i>Casearia sylvestris</i> em função de épocas de coleta .....	41
4.1.1 Composição do óleo essencial .....	55
4.2 Estudo 2. Controle in vitro de <i>Botrytis</i> sp, <i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria radicina</i> e <i>Alternaria brassicicola</i> através do óleo essencial e extratos aquoso de <i>Casearia sylvestris</i> .....	61
4.2.1 Uso do Extrato aquoso .....	61
4.2.2 Uso do óleo essencial.....	63
4.3 Estudo 3. Anatomia da origem e do desenvolvimento de raiz adventícia em estacas <i>C. sylvestris</i> .....	68
5. CONCLUSÕES .....	74
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	76
8. APÊNDICES... ..	88



## RELAÇÃO DE TABELAS

Página

1. Análise de variância do rendimento de óleo de *Casearia sylvestris* coletadas de três diferentes acessos nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012 ..... 47
2. Caracterização química dos solos coletados em Porto Alegre e Eldorado do Sul. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012 ..... 52
3. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos nas diferentes estações do ano em dois acessos coletados em Porto Alegre e um acesso em Eldorado do Sul. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012. .... 55
4. Variação da composição química de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletas na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul na Estação Experimental Agronomica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e no Jardim Botânico de Porto Alegre. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012..... 58
5. Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina*, *Alternaria brassicicola* e *Botrytis* sp, apresentados em centímetros, em função do tratamento com solução de óleo essencial de *Casearia sylvestris*. Fepagro, Porto Alegre, RS, 2012..... 64

## RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

1. Estaca herbácea utilizada para o estudo anatômico de enraizamento. Faculdade de Agronomia. UFRGS. Porto Alegre. 2012. .... 39
2. Rendimento em porcentagem de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas na Faculdade de Agronomia, no Jardim Botânico em Porto Alegre e na Estação Experimental Agronômica em Eldorado do Sul, nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012. .... 41
3. Rendimento em porcentagem de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas no Município de Eldorado do Sul, Estação Experimental Agronômica da Faculdade de Agronomia da UFRGS, nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012. .... 42
4. Rendimento em porcentagem de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas no Município de Porto Alegre, Faculdade de Agronomia da UFRGS, nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012. .... 43
5. Rendimento de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas nas quatro estações do ano no Jardim Botânico, Porto Alegre/RS. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012. .... 44
6. Dados mensais da média de precipitação, referente as estações dos anos de 2012 e 2013, dos municípios de Porto Alegre e Eldorado do Sul. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.. .... 48
7. Dados mensais das temperaturas °C máximas e mínimas, referente ao período de janeiro de 2012 a março de 2013, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012..... 48
8. Dados mensais da média de precipitação, referente as estações dos anos de 2012 e 2013, dos municípios de Porto Alegre e Eldorado do Sul. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.. .... 49
9. Placa contendo somente meio BDA (A1) e com meio BDA e extrato de folhas de *Casearia sylvestris* nas concentrações de 100% (A2) 80% (A3) demonstrando *in vitro* do crescimento micelial de *Altenaria alternata*. Fepagro, Porto Alegre, RS, 2012..... 62

10. Placas contendo meio BDA (A1, B1, C1 e D1) os fungos e com meio BDA e extrato de óleo essencial de *Casearia sylvestris* nas concentrações de 1,5% (A2, B2, C2 e D2) e 2,5% (A3, B3, C3 e D3) respectivamente demonstrando a inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Altenaria alternata* (A), *Alternaria radicina* (B), *Alternaria brassicicola* (C) e *Botrytis sp* (D). Fepagro, Porto Alegre, RS, 2012... ..... 66
11. Corte histológico transversal feito na estaca semilenhosa de *Casearia sylvestris*. EP= epiderme; PC= parênquima cortical; fs= floema secundário; xs= xilema secundário; PM= parênquima medular; Barra= 100 µm ESCAL/UFV, Viçosa-MG, 2013. .... 68
12. Cortes transversais em estacas de *Casearia sylvestris* A, B: estaca após 15 dias de instalação do experimento. A e B; corte histológico feito na estaca semilenhosa de *Casearia sylvestris* após 30 dias da instalação do experimento C e D; após 45 da instalação do experimento, E e F. Barra= 100 µm ESCAL/UFV. UFV, Viçosa, MG, 2013..... 70
13. Corte longitudinal de estaca semilenhosa de *Casearia sylvestris* após 45 dias da instalação do experimento, enraizamento completo. Barra= 100 µm ESCAL/UFV. UFC, Viçosa, MG, 2013. .... 71

## 1 INTRODUÇÃO

Estudos indicam que o Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do planeta (Barthlott *et al.*, 1996; Lewinsohn & Prado, 2005). A flora brasileira é caracterizada por uma rica biodiversidade, estimada em torno de 55 mil espécies vegetais. E, no Rio Grande do Sul, estima-se a ocorrência de no mínimo cinco mil espécies de plantas vasculares nativas (Brack *et al.*, 2004). Nesse sentido, a flora brasileira, por ser altamente diversificada, proporciona ao país posição de destaque em relação à diversidade de espécies nativas com potencial medicinal (Giulietti *et al.*, 2005).

A flora silvestre brasileira apresenta excelente potencial para exploração. Muitas espécies nativas têm sido exploradas visando oferecer alternativas de novos produtos ao mercado (Fior, 2011). As regiões tropicais mantêm não só a maior diversidade, mas também um grande número de interações ecológicas entre os organismos nas florestas tropicais. Como exemplo, provocam um grande número de adaptações, muitas das quais se apresentam nas plantas na forma de compostos bioquímicos, traduzidos pelo grande número de espécies vegetais de uso medicinal (Silva, 2003).

Nos últimos anos, os estudos com plantas medicinais e medicamentos a partir destas têm aumentado, em um mercado que havia sido dominado por produtos de base sintética, tanto em países considerados pobres como em países desenvolvidos (Bello, 2002).

Como consequência, o uso de plantas medicinais, assim como a fitoterapia, se encontram em expansão em todo o mundo e constituem um mercado bastante promissor (Einsenberg, 1998; Calixto, 2000).

O Brasil, diante de sua riqueza em diversidade biológica, assume extrema responsabilidade na manutenção dessas espécies quando se depara com a extração das plantas medicinais, que através dos métodos atualmente realizados pelos extratores, configura fato potencialmente comprometedor da manutenção das populações da flora nativa (Silva, 2003). A realização de estudos agronômicos, químicos e farmacológicos em espécies de ampla distribuição torna-se importante, uma vez que a intensa produção de metabólitos secundários nessas plantas pode favorecer o aproveitamento sustentável dos recursos genéticos e da diversidade biológica, contribuindo para a síntese de substâncias úteis na indústria química e farmacêutica, bem como o estabelecimento de novas cadeias produtivas (Odalía-Rímoli *et al.*, 2000).

As substâncias químicas consideradas como princípios ativos encontrados nos vegetais são, na grande maioria, provenientes dos metabólitos secundários, tendo, portanto, uma função ligada ao relacionamento da planta com o ambiente que a envolve; assim, é a expressão da individualidade química dos indivíduos, diferindo entre espécies, qualitativa e quantitativamente; não são vitais para as plantas na maioria das vezes e são produzidas em pequenas quantidades (Rodrigues, 2001).

Uma das espécies vegetais brasileiras que tem despertado grande interesse no ramo de fitoquímicos é a *Casearia sylvestris*, conhecida comumente como erva-de-bugre, cafezinho-do-mato, guaçatonga, entre outros. Essa espécie tem distribuição em todo território brasileiro, e dependendo da localização pode ser encontrada como arbusto e, ou árvore (Lorenzi, 1998).

As folhas, a casca e a raiz possuem ação antisséptica e febrífuga, além da ação cicatrizante, depurativa do sangue e no tratamento de sífilis; o chá das folhas é usado no combate à bronquite asmática e a casca usada como antidiarreica, em moléstias hepáticas e também contra picada de cobra (Almeida *et al.*, 1998).

Como a maioria das demais espécies nativas encontradas no Brasil, *C. sylvestris* não é cultivada, sendo obtida por processo de extrativismo. Segundo Scheffer *et al.* (1999) a espécie encontra-se listada entre aquelas com aspecto comercial importante, sendo utilizada em grande escala tanto no mercado brasileiro como no exterior e, é atualmente comercializada com uma suposta ação emagrecedora, aumentando, dessa forma, a ação antrópica sobre essa espécie. Silva (2003) verificou que, para a maioria das espécies medicinais conhecidas não há informações sobre o seu estado de conservação, tão pouco trabalhos nesta área.

Segundo Hartmann *et al.* (2002), uma técnica de propagação eficiente é a estaquia, pelo fato de as plantas originadas serem idênticas entre si e à planta matriz, se tornando uma característica altamente desejável. A utilização da propagação vegetativa ou assexuada é uma alternativa à multiplicação, proporcionando a produção de grande quantidade de mudas de boa qualidade em curto espaço de tempo, mantendo as características genotípicas da planta matriz (Oliveira *et al.*, 2002).

Sabe-se da importância de estudos relacionados com a caracterização e formação das raízes em estacas, tornando-se necessários, primeiramente, estudos histológicos e anatômicos dos eventos que ocorrem para formação das raízes adventícias (Bastos, 2006).

Estudos de anatômicos são de extrema importância, pois através destes é possível identificar barreiras mecânicas para formação das raízes em estacas. Para *C. sylvestris* já são encontrados alguns trabalhos sobre a propagação por estaquia. Segundo Spandre (2010), estacas semilenhosas de *C. sylvestris* provenientes de brotações de poda de plantas adultas possuem um bom potencial para o enraizamento e vigor radicial, não havendo necessidade de aplicação de fitorreguladores.

Sabe-se que para a propagação de plantas medicinais é necessário encontrar plantas com características desejáveis, visando uma alta produção de metabólitos secundários que apresentam potenciais medicinais, sendo importante um estudo sobre a forma mais eficiente de propagação assexuada.

Além do uso como planta medicinal, estudos com *C. sylvestris* vem demonstrando que essa espécie apresenta potencial para o controle de patógenos. Becker (2008) encontrou um efeito tóxico do óleo de *C. sylvestris* sobre o ácaro *Tetranychus urticae*. Guntzel (2008) encontrou uma atividade moderada do óleo de *C. sylvestris* sobre os seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Objetivou-se nesta pesquisa avaliar o efeito da sazonalidade no rendimento e composição do óleo essencial desta espécie, determinar a sua possível ação antifúngica do seu óleo essencial e analisar as características anatômicas da formação de suas raízes na propagação por estacas herbáceas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Diversidade vegetal brasileira e suas potencialidades

Estudos indicam que do planeta, o Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal, com cerca de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 e 550.000 espécies, detendo a flora mais rica do mundo, que corresponde a aproximadamente 22% da totalidade das espécies vegetais de ocorrência em nível mundial (Barthlott *et al.*, 1996; Lewinsohn & Prado, 2005). Além da grande extensão territorial, tal fato está relacionado com a existência de grande quantidade de diferentes situações climáticas, geomorfológicas e de solos, o que resulta na grande variedade de tipos vegetais (Scheffer *et al.*, 2008). A humanidade retira alimentos, remédios e produtos industriais da biodiversidade formada pelos 10 milhões de indivíduos que compõem a fantástica riqueza biológica do planeta, localizada principalmente nas suas florestas tropicais (Lewinsohn & Prado, 2005).

O desconhecimento dos valores reais dessa biodiversidade tem constituído sério obstáculo para o reconhecimento da necessidade de introduzir estratégias de conservação dos recursos biológicos nos planos nacionais de desenvolvimento (Heck, 1996). O Brasil, diante de sua riqueza em diversidade biológica, assume extrema responsabilidade na manutenção de suas espécies quando se depara com a extração das plantas medicinais, que através dos métodos atualmente



realizados pelos extratores, configura fato potencialmente comprometedor da manutenção das populações da flora nativa (Silva, 2003).

Segundo Silva (2003), há uma grande necessidade de elaborar pesquisas sobre conservação e cultivo de plantas para cada espécie; em particular, as medicinais que vem sofrendo com a exploração humana.

No Brasil, esforços têm sido feitos no sentido de coletar e preservar a variabilidade genética de plantas medicinais. No entanto, os estudos da variabilidade genética existente, vinculados aos estudos fitoquímicos para identificação de compostos secundários com ação terapêutica e sua implicação na conservação, ainda são incipientes (Silva, 2003).

Dentre a grande quantidade de espécies brasileiras dotadas de aspectos comerciais importantes, se encontram o guaraná (*Paullinia cupana* Kunt), a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek), a pata-de-vaca (*Bauhinia* sp.), o ipê-roxo (*Handroanthus* sp.), a fáfia (*Pfaffia* sp), a erva-de-bicho (*Polygonum* sp.), o chapéu-de-couro (*Echinodorus* sp.), a catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss) e o chá-de-bugre (*Casearia sylvestris* Swartz) (Vieira, 2002).

Uma espécie de ocorrência natural no Rio Grande do Sul, dentre as listadas acima, é a *C. sylvestris*, que, assim como a maioria das demais espécies nativas, é obtida por processo de extrativismo (Silva, 2003). Segundo Scheffer *et al.* (1999) a espécie encontra-se listada entre aquelas com aspecto comercial importante, sendo consumida em grande escala, seja no mercado brasileiro ou no exterior, como planta medicinal, e é atualmente comercializada com o nome vulgar de erva-de-bugre, com suposta ação emagrecedora, aumentando dessa forma a ação antrópica sobre essa espécie. Na 1ª Reunião Técnica Sobre Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas - Estratégias para Conservação e Manejo Sustentável, realizada em outubro de 2001 em Brasília, a

espécie foi listada como prioritária para conservação e manejo sustentável (Vieira *et al.*, 2002).

Nesse sentido, a flora brasileira, por ser altamente diversificada, proporciona ao país posição de destaque em relação à diversidade de espécies nativas com potencial medicinal (Giulietti *et al.*, 2005). A realização de estudos agronômicos, químicos e farmacológicos em espécies de ampla distribuição torna-se importante, uma vez que a intensa produção de metabólitos secundários nessas plantas pode favorecer o aproveitamento sustentável dos recursos genéticos e da diversidade biológica, contribuindo para a síntese de substâncias úteis na indústria química e farmacêutica, bem como para o estabelecimento de novas cadeias produtivas (Odalía-Rímoli *et al.*, 2000).

## **2.2 A família Salicaceae e o gênero *Casearia* Jacq**

O gênero *Casearia* foi descrito por Jacquin, (1760), sob o basônimo de *Samyda nitida* L. Este está incluído na Tribo *Casearieae* Benth. e possui aproximadamente 180 espécies pantropicais. No Brasil ocorrem aproximadamente 43 espécies, habitando diversas formações vegetais (Marquete, 2005).

É constituído por árvores e arbustos com tronco de casca lisa a fissurada; folhas alternas com pontos ou traços translúcidos; inflorescências fasciculadas ou em glomérulos, multifloras ou pacifloras, flores pequenas, sépalas cinco, estames 8 a 10, filetes filiformes, livres, anteras globosas; lobos do disco claviformes ou clavados; ovário sésil, estilete inteiro a trifido, estigma simples a trilobado no ápice; fruto cápsula, globosa, trivalvar (Marquete, 2005).

O gênero *Casearia* constitui-se em um dos mais importantes da família Salicaceae no Brasil e provavelmente na região Neotropical, pela riqueza de

espécies e pela facilidade com que se adapta às diferentes condições ambientais (Marquete, 2005).

### **2.3 Espécie *Casearia sylvestris* (Sw.)**

Vulgarmente conhecida como guaçatonga ou chá-de-bugre, erva-de-lagarto, entre outros, é uma espécie de uso medicinal indicada para várias enfermidades. A *C. sylvestris* apresenta-se distribuída em quase todo o território nacional. É uma planta pioneira, rústica e produtora de grande quantidade de sementes, sendo bastante comum em beira de estradas (Kulchetscki *et al.*, 2007). Ela aparece nas mais variadas formações florestais, com ênfase no sul do país, especialmente nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Lorenzi, 1992).

Suas folhas são simples, oblongas, elípticas ou ovado-oblongas; base foliar atenuada, simétrica à assimétrica; lâmina foliar medindo de 4 cm a 14 cm de comprimento por 1 cm a 4 cm da largura; consistência membranácea a papirácea; totalmente glabras, apresenta a nervura central numa ou nas duas faces; quando observada contra a luz, notam-se pontuações translúcidas pequenas, numerosas e distribuídas por toda a lâmina; margem levemente glandular-serrilada ou serrada (Carvalho, 2007).

Suas inflorescências são sésseis, reunidas em pequenas umbelas pedunculadas, com 20 a 40 flores afixadas na axila foliar. As flores são pequenas, mas numerosas, afixadas ao longo dos ramos, brancas, verde-esbranquiçadas, verde-amareladas ou creme, pouco vistosas no meio das folhas. O fruto é uma cápsula ovoide, medindo cerca de 5,0 mm de diâmetro, vermelha e de cálice persistente, com uma a sete sementes. As sementes são glabras, apresentam testa faveolada, com o arilo amarelo e pegajoso (Carvalho, 2007). *C. sylvestris*

apresenta folhas bastante polimorfas. Esta variação provavelmente está relacionada à adaptação a diferentes formações vegetais (Marquete, 2005 e Torres & Yamamoto, 1986).

A forma mais comum de exploração é extrativista, realizada em sua maioria por pessoas que saem à procura de propriedades onde existam árvores de *C. sylvestris*, colhendo o material vegetal com a permissão do proprietário (Balzon *et al.*, 2008).

Pavan (1999), estudando métodos de amostragem para manejo sustentado de plantas medicinais da Mata Atlântica no vale do Ribeira-SP, obteve interessantes informações sobre a *C. sylvestris*, através de entrevistas com extratores da região. A preferência é por local aberto para coleta, no período da manhã e/ou em dias sem chuva. A espécie é coletada preferencialmente de setembro a outubro, ou ainda durante todo o ano, sendo vendida para laboratórios, atacadistas e lojas de produtos naturais com valores entre R\$ 0,85 (30 g) e R\$ 15,00 (300 g) (Pavan, 1999).

Segundo Balzon *et al.* (2008) em média, os grupos coletores formados geralmente por até quatro pessoas, colhem 3000 kg de folhas verdes por semana. Essas depois de secas pesam 500 kg, sendo amão de obra remunerada à base de R\$ 0,15 por kg seco. Em seguida, a cadeia produtiva continua com primeiro intermediário, segundo intermediário, laboratório ou indústria (atacadista) e finalmente o varejo; nesse processo o preço do produto na forma de folhas secas passa dos R\$ 0,55 por kg, pagos aos coletores, aos R\$ 56,00 por kg à venda nas farmácias de manipulação, segundo preços de 2008.

A diferença tão grande de preço pode ser justificada pelos diversos processos que exigem tecnologias e equipamentos indispensáveis para a obtenção de um produto final de qualidade, contudo, o *markup* total de

comercialização (quanto do preço do produto está acima do seu custo de produção e distribuição) entre o coletor e o consumidor final atinge 10082 %. Tais dados evidenciam bem o abandono das atividades de colheita e produção da espécie por parte de colhedores e produtores, desmotivados com a baixa remuneração do trabalho (Balzon *et al.*, 2008).

Em termos de produtos, existem algumas à base de chá-de-bugre disponíveis no mercado. Uma delas é na forma de cápsulas, possuindo tamanhos e pesos variáveis, porém o mais usual é a de 0,5 g. A forma de tintura consiste na extração com álcool do princípio ativo por meio da maceração e percolação do pó da folha. A forma rasurada é a comumente encontrada em lojas de plantas medicinais e aromáticas, na forma de sachês (chás) (Balzon *et al.*, 2008).

Balzon *et al.* (2008) constatam que é necessária a padronização do produto por meio de cultivares, a introdução de novos modelos de regulação, gestão e conhecimento sobre plantio e comércio, estimulando assim todos os segmentos da cadeia produtiva, especialmente produtores e colhedores (Balzon *et al.*, 2008). Neste âmbito, a ausência de dados mais precisos sobre a propagação vegetativa e das épocas melhores do ano para a extração de óleo essencial de *C. sylvestris* compromete tanto as pesquisas de melhoramento genético da espécie e de produção de mudas quanto o aperfeiçoamento das técnicas extrativas e a exploração a nível industrial da planta (Spandre, 2010).

A espécie nativa *C. sylvestris* foi listada como uma das espécies arbóreas prioritárias para conservação e manejo sustentável durante a primeira Reunião Técnica sobre Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas (Vieira *et al.*, 2002). Estudos recentes revelam ainda que, mesmo as Casearias não fazendo ainda parte na composição de medicamentos usualmente utilizados pela

população, novas aplicações estão sendo continuamente testadas e expressam o potencial medicinal da espécie (Spandre, 2010).

## **2.4 Plantas Medicinais**

A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (Veiga Júnior & Pinto, 2005). De acordo com Ferreira (1998), plantas medicinais podem ser definidas como plantas que possuem atividade biológica, com um ou mais princípios ativos úteis à saúde humana. Assim, o valor medicinal dessas plantas está relacionado ao conteúdo e teor de substâncias químicas presentes, as quais exercem ação fisiológica sobre o corpo humano.

A importância delas para as populações dos países em desenvolvimento e desenvolvidos tem valores diferenciados. Enquanto nos países em desenvolvimento o uso tradicional de plantas como remédio é secular, com uma forte conotação sociocultural nas diversas comunidades, nos países desenvolvidos sua importância está mais relacionada com a busca de novos medicamentos e princípios ativos pela indústria farmacêutica para doenças e/ou sintomas mais ocorrentes nestes países (Scheffer *et al.*, 2008).

Além disso, a diversidade vegetal é privilégio dos países em desenvolvimento, particularmente os da região neotropical. Nesses países, incluindo Brasil, a quantidade de espécies medicinais é muito maior que nos países subtropicais, particularmente no hemisfério norte. A título de exemplo, somente a floresta amazônica comporta cerca de 16% de toda a flora mundial (Schultes; Raffauf, 1990).

O uso dos recursos vegetais está presente na cultura popular que é transmitida de geração a geração. Este conhecimento é encontrado,

principalmente, junto às populações tradicionais. No Brasil, os povos indígenas, utilizavam espécies medicinais na cura de variadas doenças (Kulchetscki *et al.*, 2006).

No Brasil, somente 20% da população consome 63% dos medicamentos disponíveis, enquanto que o restante encontra nos medicamentos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a única fonte de recursos terapêuticos (Di Stasi, 1996). Já segundo estimativa da Organização Mundial da Saúde, 80% da população mundial faz uso, principalmente, das medicinas tradicionais (populares) para suprir as necessidades de assistência médica primária.

Estudos comprovam que as plantas medicinais contêm diversas classes de compostos bioativos, como por exemplo, polifenóis, flavonoides e alcaloides (Dzingirai *et al.*, 2007). Dentre tais compostos, os fenólicos demandam relativo interesse, pois apresentam várias propriedades farmacológicas. Entre estas, destacam-se as propriedades vasoprotetoras, anticarcinogênicas, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antialérgicas (Gordona *et al.*, 2004).

#### **2.4.1 Propriedades medicinais da *Casearia sylvestris***

De acordo com Santos (2008), *C. sylvestris* é vastamente utilizada na medicina popular da América Latina. As indicações como antiofídico, antitérmico, cicatrizante e no tratamento de úlceras e gastrites são as mais citadas na literatura, sendo as folhas as partes mais utilizadas, seguidas por cascas do caule e raízes. Muitas das aplicações populares desta espécie vêm sendo corroboradas por estudos científicos (Ferreira, 2006). O grande interesse em *C. sylvestris* por parte da comunidade científica e, sobretudo, por parte da indústria farmacêutica,

surgiu após a descoberta de seus diterpenos clerodânicos e de sua possível ação no tratamento do câncer (Morita *et al.*, 1991).

*C. sylvestris* está oficializada pela Farmacopéia Brasileira I de 1929, data anterior ao desenvolvimento de diversas técnicas, como a cromatografia, essenciais às análises de controle da qualidade de drogas. Encontra-se na bibliografia, nada além das descrições macroscópicas e microscópicas das folhas, definidas como sendo a parte usada da planta, e a citação do extrato fluido de “erva-de-bugre” como produto oficial. Pelas atuais exigências governamentais esses dados não são suficientes para se efetuar um controle da qualidade da droga vegetal em questão (Luz *et al.*, 1998).

Recentemente a venda de produtos fitoterápicos a base de *C. sylvestris* tanto em farmácias de manipulação quanto em lojas virtuais para compra pela Internet tem incrementado de modo considerável (Spandre, 2010). A empresa *Oficina de Ervas*, de São Paulo, ofereciam folhas de *C. sylvestris* na forma de extrato fluido, cápsulas, tintura ou chá, com preços que variavam de R\$ 17,00 por 300 mg para as cápsulas e até R\$ 25,00 por 60 mL de extrato fluido, indicando-a no tratamento de gastrite, aftas e mau hálito (Oficina de Ervas, 2013).

Kulchetscki (2007) encontrou resultados preliminares promissores na cicatrização de úlceras gástricas induzidas em animais de laboratório, utilizando substâncias obtidas de um extrato de folhas secas da *C. sylvestris*.

O efeito analgésico do extrato bruto hidroalcoólico de *C. sylvestris* foi comprovado em estudo desenvolvido por Borges *et al.* (1998), revelando presença de princípios ativos com essa atividade, embora estes ainda não tenham sido identificados. Outro aspecto medicinal apontado pelo autor é o uso contramordedura de cobras, sendo esse efeito atribuído à espécie *C. sylvestris* var. *lingu*. Esse efeito foi investigado por Borges *et al.* (2000) a partir de extrato



aqueoso de *C. sylvestris* sobre os venenos de cobra e abelha. Nesse estudo, o extrato foi capaz de inibir atividade anticoagulante, além de reduzir o edema provocado pela ação do veneno de *Bothrops moojeni* e *Bothrops jararacussu*.

Ferreira (1980), estudando as plantas com uso medicinal popular do cerrado de Minas Gerais, aponta o uso popular de *C. sylvestris* como antisséptico e antifebril. Essas informações são também mencionadas por Correa (1984), que cita a casca como útil contra febres perniciosas e inflamatórias, além do suco ou a decocção das folhas para diarreia e moléstias herpéticas. O chá das folhas e raízes também é usado no tratamento de bronquite asmática (Rizzo *et al.*, 1990).

A eficiência do uso empírico de *C. sylvestris* como abortivo e para retirar placenta em pós-parto de animais da região centro-oeste do estado do Rio Grande do Sul não foi ainda comprovado. Entretanto, segundo Silva *et al.* (1988) o extrato bruto de folhas da espécie é capaz de modificar a atividade uterina “*in vitro*”, o que poderia explicar o uso abortivo da planta.

Em recente levantamento etnobotânico realizado com plantas com ação anticancerígena, Graham *et al.* (2000) relatou que, na Colômbia, folhas e ramos de *C. sylvestris* são utilizados como agente antitumoral.

Silva (2008) trabalhou estudando a composição química do óleo essencial de *C. sylvestris* e identificou os seguintes compostos: biciclogermacreno (43,6%),  $\beta$ -cariofileno (18,1%),  $\alpha$ -humuleno (4,7%), espatulenol (15,9%), germacreno B (5,2%),  $\alpha$ -humuleno (4,7%),  $\alpha$ -pineno (4,0%), germacreno D (3,9%), globulol (3,0%),  $\alpha$ -muurolol (2,7%). Esse mesmo autor encontrou, em 2008, atividade tóxica do óleo essencial de *C. sylvestris* sobre células, HeLa (carcinoma cervical humano), A- 549 (carcinoma do pulmão humano), HT- 29 (adenocarcinoma do cólon humano) e Vero (rim de macaco).

No trabalho realizado, Silva (2008) observou que óleo extraído das folhas de *C. sylvestris* e os sesquiterpenos testados apresentaram algum grau de atividade tóxica contra as células testadas. A citotoxicidade diferencial de *C. sylvestris* contra células tumorais mostra que o uso da planta contra diferentes tipos de câncer pode apresentar resultados positivos, uma vez que o óleo essencial apresenta baixa citotoxicidade contra células não tumorais (Silva, 2008).

Essas informações são importantes para a caracterização da ação de *C. sylvestris* na citotoxicidade, uma vez que a maioria das investigações relacionadas com a atividade citotóxica das casearias está principalmente associada a diterpenos (casearinas) isolados a partir de extratos alcoólicos da planta (Silva, 2008).

## 2.5 Óleos essenciais

Simões *et al.* (2000) definiram óleos essenciais como a mistura de um número variável de substâncias orgânicas voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. De modo geral, os óleos essenciais são princípios de origem vegetal, próprios de vários grupos de espécies, definidos pelo aroma e sabor. São chamados de óleos voláteis, essenciais ou etéreos, devido aos seus componentes químicos volatilizarem-se quando expostos ao ar, em temperatura ambiente (Serafini *et al.*, 2002; Guenther, 1972). Incolores ou ligeiramente amarelados, normalmente apresentam sabor acre (ácido) e picante (Oliveira *et al.*, 2007).

Óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário das plantas e agem como hormônios, reguladores e catalisadores. Estão associados a várias funções necessárias à sobrevivência e adaptação do vegetal em seu ecossistema. Em função disso, sua produção tende a aumentar em situações de

estresse. São reconhecidos por exercer papel fundamental na defesa contra microrganismos e predadores, na atração de polinizadores e na proteção contra perda de água e aumento da temperatura. Às vezes, chegam a atuar no controle de ervas daninhas (Bruneton, 1991; Simões & Spitzer, 2000; Siani, *et al.*, 2000; Serafini *et al.*, 2002; Lima *et al.*, 2006). Os óleos essenciais são encontrados em diversas partes vegetais (folhas, frutos, flores, cascas, sementes, etc.). Sua produção e acúmulo ocorrem em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos ou tricomas glandulares, canais oleíferos, bolsas lisígenas ou ainda em células parenquimáticas diferenciadas (Newall *et al.*, 1996; Sinai *et al.*, 2000).

Os óleos essenciais geralmente contêm entre 20 e 60 compostos em concentrações diferentes, sendo caracterizados por dois ou três componentes majoritários encontrados com altas concentrações (20-70%) comparados aos outros componentes presentes em menor quantidade. Geralmente, os componentes em maior porcentagem determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais (Betts, 2001).

Os óleos essenciais são extraídos de plantas frescas ou secas, e, no processo de extração, podem ser aplicados diversos métodos, como hidrodestilação, maceração, extração por solventes, enfleuragem, gases supercríticos e micro-ondas. Dentre estes, o método de maior aplicação é o de hidrodestilação (Santos *et al.*, 2004). A hidrodestilação é um dos processos mais antigos para obtenção de óleos essenciais, ocorre de forma rápida e simples e é realizada através de um aparelho destilador que recebe a denominação comercial ou técnica de Clevenger. A importância desse método reside no fato de que as informações de processo servem de base para o desenvolvimento do processo industrial de destilação por arraste a vapor (Serafini *et al.*, 2002; Gomes, 2002; Santos *et al.*, 2004).

Souza e colaboradores (2005) referenciam a maior ou menor atividade biológica dos óleos essenciais dependente de alguns constituintes químicos em especial (citrinal, pineno, cineol, cariofileno, elemeno, furanodieno, limoneno, eugenol e carvacrol), porém é importante comentar que, devido à complexidade da composição química de um óleo essencial, torna-se difícil relacionar a atividade biológica com as substâncias presentes. Geralmente, a ação atribuída a um composto isolado pode não ser exata, devido a algumas interações que podem ocorrer entre os compostos do óleo (Apel, 2001).

A maior obtenção de óleo essencial e a qualidade estão diretamente ligadas à época do ano em que é feita a colheita, às condições do solo (nutrição das plantas) e ao estágio fisiológico da espécie. Segundo Carvalho (2006), o principal fator a ser contabilizado na colheita de plantas medicinais é a época, sendo este o fator que mais influencia na quantidade e qualidade do óleo essencial. Desta forma, cuidados durante a colheita como época do ano, hora do dia, estágio de desenvolvimento, escolha da parte botânica e processamento do material devem ser levados em consideração para não influenciar no potencial fungistático ou fungicida das substâncias (Garcia, 2012).

Em estudos de Castellani (2006), foi avaliado o rendimento de óleo essencial de *C. sylvestris* em folhas e ramos e concluiu-se que as folhas apresentam maior teor de óleo essencial do que os ramos. O teor de óleo essencial nas folhas variou de 0,62 a 1,12%.

Em avaliação da produção de óleo essencial das folhas obtidas entre as estações outono/inverno e primavera/verão, observou-se um aumento da produção de óleo no período do outono/inverno, podendo estar associado a fenofase da planta (Castellani, 2006). Segundo Castellani (2006), recomenda-se a

coleta de folhas antes da floração. Pelo baixo teor de óleo essencial e por não ter valor comercial.

Tininis (2006) avaliou a composição do óleo essencial de populações de *C. sylvestris* localizadas em São Miguel de Arcanjo, SP, coletadas em diferentes horários. O autor observou uma variação na composição do óleo essencial em função do período de coleta, sendo que, pela manhã, os constituintes majoritários foram  $\beta$ -selineno, longifoleno, germacreno-D e germacreno-B, e à tarde, os constituintes principais foram, longifoleno,  $\beta$ -gurgeneno,  $\delta$ -cadineno, germacreno-B.

Spandre (2010) realizou trabalho com o objetivo de avaliar a influência da época de colheita (janeiro, maio, julho, setembro, novembro) na quantidade e composição do óleo essencial extraído de folhas coletadas em Curitiba, PR. Com os resultados obtidos, o autor concluiu que a espécie apresenta variação sazonal na produção de óleo essencial, sendo maio o mês que apresentou maior rendimento, com 4,06  $\mu$ L de óleo essencial. A composição química do óleo essencial encontrada apresentou 26 componentes, dentre os quais germacreno D, biciclogermacreno, trans-cariofileno, germacreno B e  $\beta$ -elemeno apresentaram teores superiores em relação aos demais constituintes em todas as coletas.

Podem ser observadas diferenças entre o teor de óleo essencial de populações de *C. sylvestris* coletadas em diferentes biomas. Silva (2004) observou valor significativamente maior (0,36%) para o material proveniente de Mata Atlântica em relação ao de cerrado (0,2%). Foi observado também que, em amostras da mata, o componente majoritário foi o trans-beta-guaieno (33%), que, no entanto, não foi encontrado nas amostras do cerrado. Também foram identificados onze compostos diferentes que não estavam presentes em todas as amostras nos dois biomas.

Ao avaliar a composição e o rendimento do óleo essencial de *C. sylvestris*, Silva *et al.* (2002) encontraram valores de 0,6% para o rendimento, sendo  $\delta$ -elemeno o componente majoritário do óleo essencial da espécie em estudo. Gomes *et al.* (2002), avaliando a variação circadiana na mesma espécie, também encontrou como majoritário o composto  $\delta$ -elemeno.

## **2.6 Uso de plantas medicinais no controle de patógenos em plantas**

As plantas medicinais contêm princípios ativos que são responsáveis por suas ações terapêuticas, desencadeando diversas reações nos vegetais, animais e nos seres humanos (Peglow e Velloso, 2002).

Nas últimas décadas, a exploração da atividade de compostos secundários de plantas tem se tornado uma alternativa no controle de fitopatógenos, com potencial ecológico para substituir o emprego de produtos sintéticos, por meio da utilização de subprodutos de plantas medicinais como extrato bruto e óleo essencial, uma vez que apresentam em sua composição, substâncias com propriedades fungicidas e, ou fungistáticas (Matos, 1997).

Dada a grande riqueza química das plantas medicinais que possuem princípios ativos microbiocidas, elas se tornam fontes potenciais de moléculas que podem ser empregadas na defesa de plantas contra fitopatógenos (Peglow e Velloso, 2002).

A sociedade vem pressionando os setores de produção na direção do aumento da oferta de alimentos mais saudáveis, visando a segurança alimentar do consumidor no que se refere aos resíduos de agrotóxicos. O Brasil e outros países que têm na sua agricultura a base da sua economia já sentem necessidade de buscar alternativas e começam a implantar sistemas mais sustentáveis de produção integrada, nos quais o controle biológico é ferramenta

indispensável (Bettiol & Morandi, 2009). Além da preocupação relacionada aos resíduos de agrotóxicos nos alimentos, a questão ambiental está diretamente associada a esse desejo social de mudança do padrão químico convencional para métodos integrados de produção. A viabilidade econômica de um sistema de produção é um fator que afeta diretamente o agricultor e talvez deva ser o primeiro a ser considerado para a maior aceitação do controle alternativo. Se existem viabilidade econômica e eficácia no método, existe também o estímulo para o agricultor usar o insumo biológico (Bettiol & Morandi, 2009).

A utilização de plantas para o controle de pragas constitui uma técnica antiga, amplamente utilizada em países tropicais antes do controle com produtos sintéticos (Gallo, 2002). As plantas tropicais constituem um reservatório de substâncias que, originalmente, são empregadas na sua própria defesa contra o ataque de herbívoros (Vilela, 1990).

Trabalhos desenvolvidos com óleo essencial, obtido a partir de plantas medicinais da flora nativa, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungicida direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores. O objetivo final é obter, através do óleo essencial e de extrato bruto, uma tecnologia que possa ser repassada para pequenos produtores rurais, ou aqueles interessados no cultivo orgânico, para os quais formas alternativas de controle de doenças são necessárias (Schwan-Estrada, 2000).

Becker (2008) observou o efeito tóxico do óleo essencial de *C. sylvestris* em concentrações de 2,0%, tendo como resultado o óleo causando 72,46% de mortalidade sobre o ácaro *Tetranychus urticae*.

O extrato bruto seco de *Ottonia martiana* foi testado frente ao isolado *Cylindrocladium spathulatum* e apresentou potencial antifúngico em folhas de erva-mate (Cunico, 2003).

Rodrigues (2006) avaliou a fungitoxicidade dos extratos brutos aquosos de *Zingiber officinalis* e *Corymbia citriodora* sobre o fungo *Helminthosporium* sp.; *Corymbia citriodora* apresentou atividade antifúngica sobre *Helminthosporium* sp., tanto *in vitro* como *in vivo* quando aplicada preventivamente, em concentrações acima de 5% em fibras do pseudocaule da bananeira, as quais são utilizadas na fabricação de artesanato (Rodrigues, 2006).

Venturoso *et al.* (2011) testou extratos brutos aquosos de bulbos de alho (*Allium sativum* L.), casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breym), botão floral de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.), folhas de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.), casca do fruto de jabuticaba (*Myrcia cauliflora* Berg), sementes de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e parte aérea de arruda (*Ruta graveolens* L.), cavalinha (*Equisetum* sp.), hortelã (*Mentha piperita* L.) e melão de são caetano (*Momordica charantia* L.) na concentração de 20%. Os extratos brutos aquoso foram testados nos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum* sp., *Fusarium solani* e *Phomopsis* sp. Com esse trabalho, os autores observaram que os meios de cultura contendo os extratos de cravo-da-índia, alho e canela apresentaram maior atividade antifúngica sobre os fitopatógenos, quando comparados aos demais extratos utilizados, destacando o extrato de cravo-da-índia, que inibiu completamente o desenvolvimento de todos os fitopatógenos testados.

Benini *et al.* (2010) verificou o efeito do óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) no crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Rhizoctonia*



*solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp. e *Alternaria alternata*. Os autores observaram que houve inibição total do crescimento micelial dos fungos.

Em um experimento, Garcia *et al.* (2012) estudaram o efeito de óleos e extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. Com óleo essencial em concentrações de 25, 50, 75 e 100 µg de azadiractina, obtida de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss) foram estudadas em associação às doses de 0, 1/3, 1/6, 1/8 e 1/10 do óleo de karanja (*Pongamia glabra*). A maior inibição do crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações dos óleos de nim indiano e de karanja. A concentração de azadiractina correspondente a 100 µg com 1/3 de óleo de karanja foi a mais eficiente na redução do crescimento micelial, com 63% de inibição. A associação entre karanja e nim indiano proporcionou melhor efeito inibitório sobre o patógeno, demonstrando um efeito sinérgico.

Com o exposto acima, percebe-se o avanço das pesquisas utilizando extrato e óleo essencial, com um grande potencial para o controle de patógenos. Além disso, com o avanço da agricultura orgânica e as exigências do mercado consumidor por produtos oriundos de práticas agrícolas menos agressivas, os óleos essenciais podem atender esta demanda, fornecendo subsídios para o manejo de doenças quando necessário (Lorenzetti, 2011).

É importante salientar que diferentes espécies respondem de forma diversificada às condições ambientais que lhes são impostas, produzindo, conseqüentemente, quantidades de óleos essenciais diferentes (Spandre, 2010). Por isso a importância de se estudar individualmente as espécies de plantas medicinais, a fim de identificar o seu potencial para o uso em controle biológico.

Santos (2010) testou extrato de alho *in vitro* e concluiu que, em doses de 50000 mg L<sup>-1</sup>, esse extrato é eficiente na inibição do crescimento do fungo

*Aspergillus niger*, sendo necessária instalação do experimento em casa de vegetação para avaliar qual a dosagem certa para o controle da espécie *Aspergillus niger* em nível de campo, bem como o comportamento e a interação com a microbiota do solo, para assim poder fazer desse extrato uma forma de controle alternativo e economicamente rentável para os pequenos produtores.

## **2.7 Os Fitopatógenos *Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria brassicicola* e *Alternaria radicina***

Durante o desenvolvimento e o crescimento das plantas, no campo, elas se encontram vulneráveis à contaminação por fungos e outros organismos patogênicos, originando plantas doentes (Dhingra, 1985). Os fungos infectam o vegetal em qualquer fase de desenvolvimento, podendo atacar diversos órgãos da planta, causando sérios prejuízos à produção.

### **2.7.1 *Alternaria* sp**

Em todo o mundo, as alternarioses estão entre as doenças fúngicas em hortaliçasmias comuns. Causadas por fungos do gênero *Alternaria*, pertencente à família Pleosporaceae à ordem Pleosporales, caracterizam-se por afetar plântulas, folhas, caules, hastes, flores e frutos de várias hortaliças, tais como solanáceas, apiáceas, aliáceas, crucíferas, curcubitáceas e chichoriáceas. Em função da cultura e órgão que afetam, podem apresentar diferentes nomenclaturas como “pinta preta” para tomate, batata e pimentão; “mancha de alternaria”, para crucíferas, chichoriáceas e cucurbitáceas em geral; “mancha púrpura” para aliáceas, e, queima das folhas para cenoura (Tófoli, 2010).

De maneira geral, as alternarioses são doenças típicas de primavera e verão, todavia, podem causar danos importantes em outonos e invernos atípicos. Os sintomas aparecem primeiramente nas folhas mais velhas e evoluem posteriormente para as partes mais novas da planta. A doença costuma apresentar alto poder destrutivo em condições de altas temperaturas e umidade. A ocorrência de epidemias severas da doença está sempre associada às temperaturas diárias de 25 a 32° C. A literatura cita que as temperaturas mínimas, ótimas e máximas necessárias para a germinação dos conídios são as de 5 - 7, 25 - 27 e 30 - 32° C, respectivamente. A umidade, fator importante na germinação de conídios, pode ser conferida pela chuva, água de irrigação ou orvalho. A presença de água livre na superfície foliar é fundamental para a germinação, infecção e esporulação do fungo. De maneira geral, os maiores índices de mancha de alternaria ocorrem em condições de 40% de umidade relativa durante o dia e 95% durante a noite. A esporulação abundante do fungo ocorre na faixa de 14 a 26 °C, com umidade relativa de 100% durante 24 horas. (Tófoli, 2006).

O fungo *Alternaria* sp. tem sido encontrado como organismos saprófitas ou parasitas de plantas. É descrito como tendo um crescimento lento e baixa esporulação em meios de cultura convencionais (Silva e Melo, 1999). A alta severidade das alternarioses em geral é caracterizada por intensa redução da área foliar, queda do vigor das plantas, quebra de hastes, depreciação de frutos e tubérculos, morte de plantas e conseqüente redução da produção e qualidade. O aumento de suscetibilidade à infecção está geralmente associado a tecidos que tenham alcançado a maturidade ou plantas em períodos de frutificação, bulbificação ou tuberização. Durante esta fase, ocorre uma demanda maior de açúcares e nutrientes para a formação de frutos, tubérculos, bulbos, raízes e

brotações novas em detrimento da folhagem mais velha, favorecendo o processo infeccioso em órgãos exportadores (Töfoli, 2013).

As lesões foliares da queima por *Alternaria* são geralmente pequenas e se localizam nas margens e extremidades dos folíolos. São de tamanho e formato irregulares, apresentam coloração marrom escura ou preta e podem ser circundadas por halos cloróticos. Em condições favoráveis, as manchas tornam-se numerosas e expandem-se até o coalescimento das mesmas. Neste estágio, os folíolos amarelecem, secam e morrem rapidamente, conferindo às folhas o aspecto de queima. Lesões negras, grandes e alongadas também podem ser observadas em pecíolos e inflorescências. Em plântulas, o fungo pode causar lesões no colo, seguidas de tombamento e morte (Töfoli, 2010).

O vento e a água são os principais agentes de dispersão da doença na cultura. A queima por *alternaria* apresenta rápido desenvolvimento após o fechamento da cultura pelo intenso crescimento vegetativo. Tal fato deve-se ao acúmulo de umidade no interior da densa folhagem e pela deficiente circulação de ar entre as plantas. Uma vez presentes na cultura, os conídios são dispersos pela ação da água, ventos e insetos. Além dessa forma de disseminação, os trabalhadores, equipamentos e animais, em contato com as folhas molhadas, podem disseminar o fungo (Töfoli, 2010).

Diferentes espécies de *Alternaria* presentes em sementes de espécies agrônômicas, quando armazenadas, diminuem ou perdem a viabilidade do inóculo com o incremento do tempo (Crochemore & Piza, 1994).

As condições de disseminação do fungo estão altamente relacionadas às condições ambientais, sendo, em geral, necessárias várias aplicações anuais de fungicidas para reduzir a severidade da doença, aumentando significativamente o custo de produção (Timmer *et al.*, 2003).

Algumas podridões em frutos são causadas por patógenos secundários e, em alguns casos, saprófitas. Esses penetram frutos maduros ou em processo de maturação, afetando seu rendimento graxo e a qualidade do azeite. Os frutos afetados por *Alternaria alternata* apresentam lesões secas, levemente deprimidas e negras (Töfoli, 2013).

A redução na qualidade fisiológica de sementes pode estar ligada à associação de fungos com as sementes, a qual é responsável pela disseminação de patógenos em novas áreas de cultivo e transmissibilidade à progênie resultante. Entre os fungos que se associam às sementes de cenoura, *Alternaria radicina* é o mais importante (Magalhães *et al.*, 2004).

Outra *Alternaria* que apresenta graves consequências para várias culturas é a *Alternaria brassicicola* que afeta as folhas, sendo as principais repolho, couve chinesa, couve flor, couve de Bruxelas, couve, brócolis e nabo (Töfoli, 2006).

As manchas causadas nas folhas por *Alternaria brassicicola* são pequenas e necróticas, com coloração escura, quase negra. Os sintomas típicos ocorrem nas partes florais, principalmente na couve-flor (Kimati, 1997).

A disseminação de *Alternaria brassicicola* é feita através de sementes infectadas, mudas doentes e pelo vento. Sobrevivem em restos de cultura infectados, em plantas daninhas, hospedeiras espontâneas e em sementes. A doença é favorecida por temperaturas moderadas e alta umidade relativa (Kimati, 1997).

### **2.7.2 *Botrytis* sp**

O gênero *Botrytis*, é o agente causal do mofo cinzento e afeta um grande número de plantas frutíferas, oleráceas e ornamentais. Comum em cultivo protegido, a doença também pode alcançar níveis consideráveis em campo

aberto e câmaras de armazenamento. A doença causa prejuízos estéticos, qualitativos e quantitativos, tornando o controle difícil em condições onde se observa falta de rigor técnico na condução do cultivo e em condições meteorológicas muito favoráveis a doenças (Töfoli, 2011).

Esse fungo é comumente encontrado em canteiros com alta densidade de mudas. Os sintomas são um enrolamento das folhas seguido da seca e queda das mesmas; as partes afetadas apresentam coloração cinza característica, correspondendo a abundante esporulação do fungo (Grigolletti Júnir & Santos, 2001).

Dentre as dificuldades de manejo desta doença estão a extensa gama de hospedeiros deste patógeno e a capacidade de crescer a temperaturas de refrigeração (Costa, 2011). *Botrytis* sp. Pode causar prejuízos consideráveis em flores, frutas e hortaliças armazenadas em câmaras frigoríficas na faixa de 0 a 10° C. De maneira geral, essas plantas já vêm do campo com lesões latentes da doença, que se manifestam durante o transporte e comercialização desses produtos (Töfoli, 2011).

## **2.8 Propagação vegetativa**

A propagação vegetativa consiste em multiplicar assexuadamente partes de plantas (células, tecidos, órgãos ou propágulos), originando indivíduos geralmente idênticos à planta matriz. É uma técnica que está sendo cada vez mais adotada em nível mundial, principalmente por sua maior efetividade em capturar os ganhos genéticos obtidos dos programas de melhoramento (Wendling, 2000).

Segundo Wendling (2000), as variações encontradas no enraizamento das espécies originam-se de uma interação de fatores externos e internos inerentes,

presentes nas células das plantas, bem como de substâncias translocáveis produzidas nas folhas e gemas, como as auxinas, os carboidratos, os compostos nitrogenados, as vitaminas, entre outras, sendo tais variações ainda pouco esclarecidas em espécies lenhosas.

Embora a maioria dos fatores envolvidos na propagação vegetativa de plantas tenha sido identificada, ainda há carência na compreensão da importância individual, da interação desses fatores no processo de propagação e da fisiologia do processo (Wendling, 2000).

### **2.8.1 Estaquia**

Segundo Fachinello (1994), o termo estaquia é usado para designar o processo de propagação, o qual ocorre a indução do enraizamento adventício em segmentos retirados da planta matriz em condições favoráveis, podendo assim originar uma nova planta. A estaquia é uma técnica de propagação vegetativa utilizada em grande escala na produção comercial de mudas, com boa qualidade e com um tempo considerado curto (Oliveira *et al.*, 2001).

No caso de plantas frutíferas a estaquia é um método utilizado para a produção de mudas com características idênticas à planta-matriz, permitindo a formação de pomares homogêneos quanto à produtividade, qualidade do fruto, precocidade e tolerância às pragas e doenças, além da antecipação do início da produção comercial, a partir da redução do período de juvenilidade da planta (Lira Júnior *et al.*, 2007).

O tipo de estaca e a estação do ano também são fatores que influenciam a formação de raízes adventícias e vários autores verificaram o efeito desses fatores, como Ferreira *et al.* (2001). Com relação à idade das plantas- matrizes, em geral, estacas provenientes de material vegetativo juvenil enraízam com maior

facilidade; quanto mais juvenis, mais rápida é a formação das raízes, melhor é a qualidade do sistema radicular formado e menor é a probabilidade de barreiras anatômicas que podem interferir negativamente para a formação de raízes adventícias (Hartmann *et al.*, 2002). Em espécies de fácil enraizamento, as estacas podem ser colhidas em qualquer época do ano, enquanto para outras espécies o período de maior enraizamento coincide com a estação de repouso ou com a estação de crescimento (Paiva & Gomes, 1993).

*C. sylvestris* é uma espécie propagada naturalmente por semente, por isso apresenta uma alta variabilidade genética. Essa variabilidade genética ligada aos fatores ambientais e fisiológicos afeta a biossíntese de metabólitos secundários e a concentração de óleos essenciais em suas folhas (Spandre, 2010).

### **2.8.2 Anatomia**

O enraizamento adventício é um processo peculiar e complexo, estando associado a estresse por dano mecânico, mudanças nas relações de água na planta e perda de influências correlativas devido à separação da parte aérea do sistema radicular original, sendo regulado pela interação de múltiplos fatores como fito hormônios, carboidratos, compostos fenólicos, estado fisiológico da planta-mãe e características genéticas (Haissig, 1982), substâncias nitrogenadas e aminoácidos (Hartmann *et al.*, 2002).

Em estacas lenhosas onde estão presentes xilema e floema secundários, as raízes originam-se, geralmente, do tecido jovem do floema secundário, mas também podem originar-se dos raios vasculares, do câmbio ou dos calos produzidos na base das estacas (Hartmann *et al.*, 2002). A formação de raízes ocorre em resposta ao traumatismo produzido pelo corte durante a confecção da estaca, gerando lesão nos tecidos do xilema e floema (Fachinello *et al.*, 1995).



As raízes podem originar-se a partir de primórdios radiculares, derivadas do parênquima interfascicular em ramos novos, enquanto os calos têm origem nas células da região do câmbio vascular e do floema (Frassetto, 2007).

A propagação vegetativa é um dos métodos mais utilizados e apresenta como ponto crítico o início do desenvolvimento de um sistema radicular funcional. Uma série de mudanças morfológicas está associada com a formação de raízes em estacas, como a formação ou não de calos, o desenvolvimento do primórdio radicular e a emergência da raiz (Thomas & Schiefelbein, 2002).

A formação da raiz adventícia é um processo complexo e dependente de fatores como nível de fitorreguladores endógenos, presença de carboidratos, presença ou ausência de gemas dormentes e emergência de brotações (Smart *et al.*, 2003). A presença de carboidratos é importante para o enraizamento, por ser fonte de carbono para a síntese de substâncias essenciais à formação das raízes (Araujo *et al.*, 2004). Estacas com concentrações mais elevadas de carboidratos normalmente apresentam melhores taxas de enraizamento (Hartmann *et al.*, 2002).

Segundo Lovell e White (1986), algumas espécies apresentam barreiras anatômicas específicas como a presença de fibras e esclereídeos no floema primário do caule, que pode formar um anel contínuo nesta região, podendo assim bloquear mecanicamente os primórdios de raiz, e em caules mais velhos a presença de uma bainha de esclerênquima perivascular, podendo constituir um obstáculo no desenvolvimento das raízes. Essas barreiras anatômicas podem ser a principal dificuldade encontrada na hora do enraizamento das estacas, por isso a importância de realizarmos trabalhos com estudos anatômicos, podendo identificar tais barreiras.

Fachinello *et al.* (1994) citando vários autores afirmam que o traumatismo produzido pelo corte permite que as raízes se formem nas estacas, sendo a desdiferenciação e a totipotência dois aspectos fundamentais no processo de enraizamento. Ao preparar as estacas, ocorre uma lesão tanto nos tecidos do xilema quanto nos do floema, resultando em traumatismo, que é seguido por um processo de cicatrização formando uma capa de suberina, que reduz a desidratação na área lesada. Nessa região frequentemente se forma uma massa de células parenquimáticas desorganizadas, pouco diferenciadas e em diferentes estágios de lignificação, as quais são denominadas calo. Calo pode ser caracterizado como um grupo ou massa de células em crescimento desorganizado e com certo grau de diferenciação. Assim estas células que se tornam meristemáticas dividem-se, reorganizando-se e originam primórdios radiculares, ocorrendo formação de raízes adventícias nas células adjacentes ao câmbio e ao floema (Torres e Caldas, 1990).

Segundo Hartmann (1997), a principal característica de plantas com difícil enraizamento é apresentar um elevado grau de esclerificação. Sendo esse o fator que exerce influência direta na capacidade de enraizamento de várias espécies, criando uma barreira mecânica com o aumento de lignina nos tecidos.

Em trabalho realizado por Lima *et al.* (2011), ficou evidenciado que a dificuldade de enraizamento de estacas de espinheira santa (*Maytenus muelleri* Schwacke) não causado por barreira mecânica, mas pela presença de compostos fenólicos, possivelmente do grupo dos monofenóis, que causam a degradação do ácido indolacético, interferindo negativamente na indução do enraizamento.

Respostas anatômicas puderam ser observadas quando as estacas de *Theobroma cacao* foram submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico que promoveu mudanças anatômicas nos órgãos das mudas dos

diversos clones avaliados, influenciando principalmente a atividade do câmbio vascular nas estacas (Santos Júnior, 2008).

Para *C. sylvestris* alguns trabalhos já foram realizados Backes (2010), utilizando estacas herbáceas e lenhosas obteve baixo índice de enraizamento. Outro trabalho realizado com estacas herbáceas de *C. sylvestris* concluiu que a espécie não demonstra potencial de enraizamento (Santos, 2010).

Spandre (2010) obteve resultados significativos com estacas semilenhosas proveniente de brotações de poda de plantas adultas, concluindo que *C. sylvestris* possui um bom potencial para o enraizamento e vigor radicial, não havendo necessidade de aplicação de fitorreguladores quando utilizadas estacas semilenhosas.

Na literatura, há alguns trabalhos exploratórios sobre propagação vegetativa de *C. sylvestris*. Porém a linha de estudos anatômicos de enraizamento ainda é muito recente e são poucas as espécies que apresentam essa descrição. Visto isso é de suma importância que se realizem trabalhos para melhor conhecer e caracterizar esta espécie em estudo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram desenvolvidos no período de março de 2012 a dezembro de 2013, nas instalações do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS) no Campus da Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), no Laboratório de Fitopatologia da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro), no Jardim Botânico de Porto Alegre, na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS), localizada no município de Eldorado do Sul (Km 146, BR 290), no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, e as análises da composição do óleo essencial foram realizadas no Instituto Agronômico de Campinas, no Laboratório de Produtos Naturais - Fitoquímica.

#### **3.1 Experimento1. Rendimento e composição sazonal do óleo essencial de *Casearia sylvestris***

Folhas de *C. sylvestris* foram coletadas no período da manhã, nas quatro estações do ano e em três populações situadas em Porto Alegre e Eldorado do Sul, em uma quantidade mínima de 300 g de folha por planta.

As coletas foram realizadas em:

- População Agronomia, representados por 6 indivíduos na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre, localizadas em S 30°04.265' W 051°88. 314' elevação 66 m;
- População Jardim Botânico, representada por 5 indivíduos, no Jardim Botânico de Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre, localizada em S 30° 05.0652' W 051° 17. 6913';
- População de Eldorado do Sul, representada por 8 indivíduos, na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Eldorado do Sul, localizadas em S 30° 06.470', W 051° 39. 967' elevação: 10 m.

As coletas foram realizadas em dias de pleno sol. Cada indivíduo constituiu uma amostra. Independente da época, o material vegetal foi coletado dos quatro quadrantes de ramos de árvores adultas com altura entre cinco e sete metros. Após a coleta, as folhas foram retiradas dos ramos e o material acondicionado em sacos plásticos devidamente identificados. O mesmo foi rapidamente transferido ao Laboratório do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS onde foi mantido a temperatura de - 20°C.

Foram separadas três amostras de peso igual a dez gramas de material vegetal para determinação do teor de umidade. Para tanto se realizou pesagem no momento da extração, pela secagem em estufa com circulação de ar forçada, a 65 °C até se obter massa constante.

As extrações de óleo essencial foram realizadas com amostras individuais de cada indivíduo, por meio de hidrodestilação, em aparelho graduado tipo Clevenger. A extração realizou-se por três horas. Para tanto, utilizou-se de um balão de vidro com 10 litros de capacidade, no qual foram adicionados quatro litros de água destilada e 300 gramas de folhas de *C. sylvestris*, picadas com o

auxílio de tesouras, em fragmentos de aproximadamente 2 cm quadrados. Após a extração do óleo essencial, foi feita a leitura (mL) no aparelho, sendo as amostras armazenadas a -20°C até o momento da análise. O cálculo de rendimento do óleo essencial foi feito com base na matéria seca através da relação do volume de óleo (mL) obtido com a massa seca do material vegetal, calculado pela fórmula:

$$T\% = \text{Volume do óleo (mL)} / \text{quantidade de massa seca} \times 100$$

(Silva Santos, 2004).

A análise qualitativa da composição química dos óleos essenciais foi conduzida em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM, Shimadzu, QP-5000), dotado de coluna capilar de sílica fundida OV - 5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm Ohio Valley Specialty Chemical, Inc.), operando por impacto de elétrons (70 eV.), hélio com gás de arraste (1,0 mL/min.), injetor a 240 °C, detector a 230 °C, *split* 1/20 e o seguinte programa de temperatura: 60 °C – 240 °C, 3 °C/min.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 lib.) e com literatura (Mclafferty & Stauffer, 1989) e índice de retenção (Adams, 2007). Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

O delineamento experimental utilizado para rendimento do óleo essencial foi inteiramente casualizado. A análise estatística dos dados obtidos foi realizada pelo programa Assistat Versão 7.7 Beta. As médias dos tratamentos de cada acesso foram submetidas a teste de comparação de médias pelo teste Scott-knott.

### **3.2 Experimento 2. Controle *in vitro* de *Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola* através de extrato de folhas e óleo essencial de *Casearia sylvestris*.**

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Fitopatologia da Fepagro em Porto Alegre, RS, através de testes de inibição de crescimento de *Botrytis* sp isolados de Amora-preta (*Morus nigra*), *Alternaria alternata*, e *Alternaria radicina* isolado de cenoura (*Daucus carot*) e *Alternaria brassicicola* isolado de couve (*Brassica oleracea*) utilizando extrato aquoso e óleo essencial de *C. sylvestris*.

#### **3.2.1 Experimento 2.1. Efeito do extrato aquoso de *Casearia sylvestris* sobre os patógenos**

Inicialmente foram avaliados 4 métodos diferentes com o intuito de otimizar o experimento. Os seguintes métodos foram avaliados para determinar o melhor procedimento de obtenção do extrato:

- 1- Foram pesados 5g de material vegetal, o qual foi triturado em 50ml de água destilada esterilizada, durante 10 minutos, em liquidificador doméstico. A seguir o material foi filtrado em papel de filtro (Whatman nº1) e, posteriormente, em membrana filtrante de porosidade de 0,45mm. A solução foi utilizada imediatamente após sua obtenção. As diferentes concentrações foram espalhadas sobre a superfície do meio (Ribeiro, 1999).
- 2- As folhas foram secas em estufa a 65°C por 48 h, posteriormente trituradas em moinho até a obtenção de pó. A solução foi obtida pela adição do pó em água destilada, em diferentes proporções sendo a solução mantida em frascos por 24 h para a extração dos compostos

hidrossolúveis. As diferentes concentrações foram espalhadas sobre a superfície do meio (Vendramim, 2001);

3- Foram pesados 20 g de material vegetal, o qual foi triturado em 50 ml de água destilada esterilizada, durante 10 minutos, em liquidificador doméstico. A seguir o material foi filtrado em papel de filtro (Whatman n°1) e, posteriormente, em membrana filtrante de porosidade de 0,45mm. A solução foi mantida em frascos por 24 h para a extração dos compostos hidrossolúveis. As diferentes concentrações foram espalhadas sobre a superfície do meio (método adaptado de Ribeiro, 1999).

4- Foram pesados 20 g do material vegetal que foram trituradas em liquidificador com 50 mL de água destilada e posteriormente levada para o micro-ondas por 1 minuto. A solução foi filtrada em papel de filtro Whatman n° 1 e, posteriormente, em membrana filtrante de porosidade de 0,45mm. As diferentes concentrações foram espalhadas sobre a superfície do meio (método adaptado de Ribeiro, 1999).

Os ensaios para determinação da inibição dos fungos *in vitro* foram realizados em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose e Agar) com concentrações de 80%, 100% que foram obtidos pela diluição da solução em água destilada esterilizada. Os extratos foram espalhados sobre a superfície do meio na quantidade de 200 µL.

A seguir, um disco de micélio de 0,5 cm de diâmetro retirado de colônias desenvolvidas em meio BDA foi repicado para o centro de cada placa que foi vedada com filme plástico e mantida a 25 °C ± 2, em câmara com fotoperíodo de



12 h luz. Após 7 dias foi calculado a área (cm<sup>2</sup>) do crescimento micelial radial (mm).

Os tratamentos foram 4 patógenos (*Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina*, *Alternaria brassicicola*) e o extrato em diferentes concentrações (80 e 100%) onde foram realizadas 3 repetições por tratamento e a testemunha que consistiu em placas com o fungo em meio BDA, sem a adição do extrato. O meio BDA foi utilizado para todos os tratamentos.

### **3.2.2 Experimento 2.2. Efeito de óleo essencial de *Casearia sylvestris* sobre os patógenos**

Para o preparo da solução de óleo essencial foram adicionados em balão de erlenmeyer estéril 0,4 mL do óleo essencial, uma mistura de óleo essencial de todos os acessos, 0,04 mL de Tween 20 e cinco mL de água destilada estéril, o erlenmeyer foi agitado por cinco minutos usando-se aparelho Vortex (Fanem), obtendo-se uma solução com concentração de 8% do óleo essencial passando pela esterilização por filtração em membrana Millipore. As concentrações testadas foram 0; 1,5% e 2,5%, sendo adicionadas ao meio de cultura BDA (Batata-Dextrose e Agar) após esterilização (adaptado de Garcia *et al.*, (2012).

A seguir, um disco de micélio de 0,5 cm de diâmetro retirado de colônias desenvolvidas em meio BDA, foi repicado para o centro de cada placa, individualmente, que foi vedada com filme plástico e mantida a 25° C ± 2, em câmara com fotoperíodo de 12 h luz. O tratamento testemunha consistiu em placas com apenas BDA.

As avaliações foram realizadas 7 dias após a instalação do experimento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições por

tratamento. As médias dos tratamentos foram submetidas a teste de comparação de médias pelo teste de Duncan.

### **3.3 Experimento 3. Anatomia da formação do desenvolvimento de raízes adventícias em estacas de *Casearia sylvestris***

A coleta de material de *C. sylvestris* foi realizada em brotação do ano retiradas do ápice. Os ramos herbáceos foram obtidos de plantas matrizes do acesso Agronomia localizadas na Faculdade de Agronomia da UFRGS em Porto Alegre.

As estacas foram selecionadas com diâmetro entre 0,02 e 0,05 cm e com comprimento entre oito e dez cm, com corte em bisel na base e transversal acima da última gema axilar, mantendo-se um par de folhas com metade do limbo na porção apical (Figura 1).



FIGURA 1. Estaca herbácea utilizada para o estudo anatômico de enraizamento. Faculdade de Agronomia. UFRGS. Porto Alegre. 2012.

A estaquia foi realizada em bandejas contendo o substrato casca de arroz carbonizada autoclavada em temperatura  $\geq 121$  °C por 15 minutos. Todas as bandejas, tão logo preenchidas, foram levadas à câmara de nebulização intermitente (irrigação de 15 segundos a cada 2 minutos) localizada no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia. Foram realizadas quatro repetições de 30 estacas, e a cada 15 dias até o enraizamento, três estacas foram retiradas para análise anatômica da formação das raízes.

Para a análise anatômica qualitativa, foram coletadas amostras da base das estacas, e estas foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,05 M, por 48 horas, e estocadas em etanol 70%. As amostras foram desidratadas em série etílica crescente e incluídas em metacrilato (Historesin – Leica) de acordo com as recomendações do fabricante. O material emblocado foi seccionado, transversal e longitudinalmente, em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM 2155, Leica) com 5  $\mu$ m de espessura, corado com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964) para metacromasia (Johansen, 1940), e montado sob lamínula com resina sintética (Permout®). A observação e a obtenção de imagens foram realizadas em microscópio de luz (modelo AX-70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan) acoplado a câmera fotográfica digital (modelo Zeiss AxioCam HRc, Göttinger, Germany) e microcomputador com o programa de captura de imagens Axion Vision.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estudo 1. Rendimento e composição do óleo essencial de *Casearia sylvestris* em função de épocas de coleta

Observa-se na Figura 2 a variação do rendimento do óleo essencial obtido nas 3 populações estudadas sendo visível o maior rendimento na estação primavera na população de Eldorado do Sul seguido pela estação verão sendo está a de maior rendimento para população Jardim Botânico e Agronomia.

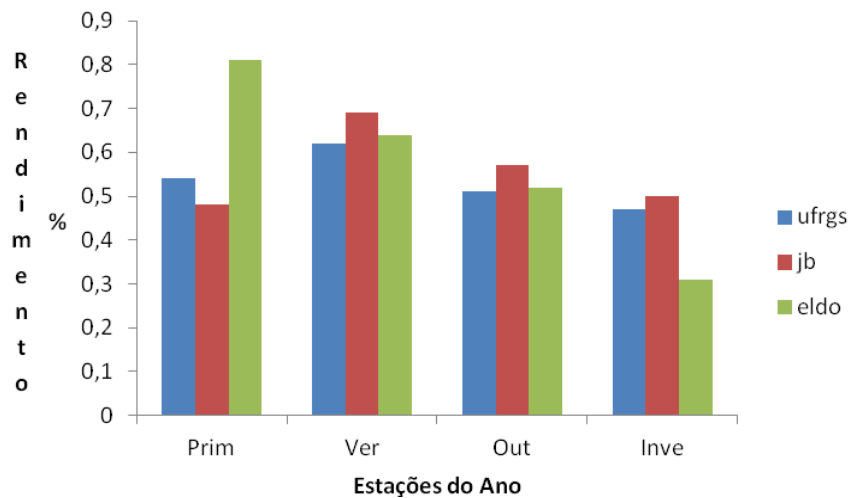


FIGURA 2. Rendimento em porcentagem de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas na Faculdade de Agronomia (ufrgs), no Jardim Botânico em Porto Alegre (jb) e na Estação Experimental Agronômica em Eldorado do Sul (eldo), nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

O rendimento de óleo essencial de folhas de *C. sylvestris* variou significativamente de acordo com a época do ano para folhas coletadas nas diferentes populações. No acesso Eldorado do Sul, o menor rendimento foi observado no inverno (Figura 3), quando a média do rendimento de óleo foi de 0,31%, seguido pela coleta de outono com 0,52%, verão com 0,64% e primavera com 0,81%, sendo esta a estação que apresentou o maior rendimento de óleo essencial para esse acesso.

Alguns fatores devem ser levados em consideração quando se trabalha com rendimento e composição de óleo essencial, sendo o principal a época de colheita das plantas medicinais (Arrigoni-Blank *et al.*, 2002). Além deste fator, o teor dos princípios ativos podem variar em função do estágio de desenvolvimento da planta e/ou das condições edafo-climáticas onde a mesma se desenvolve (Arrigoni-Blank *et al.*, 2002).

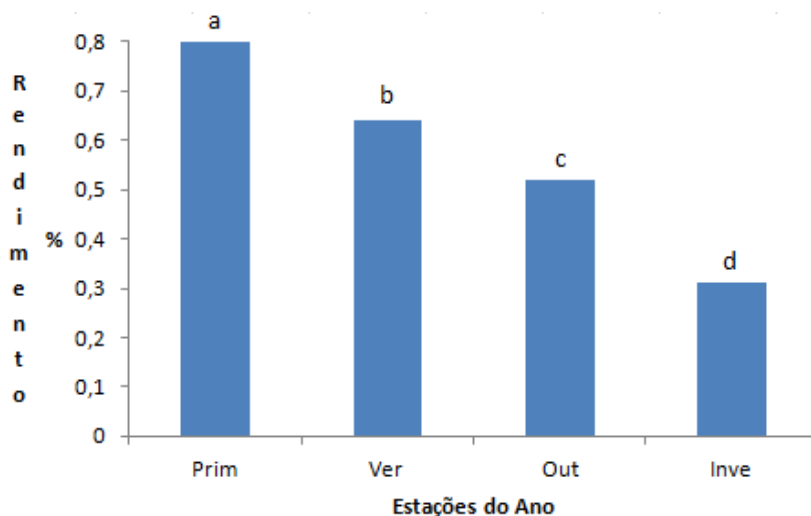


FIGURA 3. Rendimento em porcentagem de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas no Município de Eldorado do Sul, Estação Experimental Agronômica da Faculdade de Agronomia da UFRGS, nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,01$ ).

Observa-se na Figura 4 o rendimento de óleo essencial das folhas do acesso UFRGS, na qual não observou-se diferença estatística significativa entre as estações. O menor rendimento foi obtido no inverno (0,47%), seguido do outono (0,51%), primavera (0,54%) e verão com 0,62%, diferenciando-se do acesso Eldorado, onde a primavera foi a estação que apresentou maior rendimento de óleo.

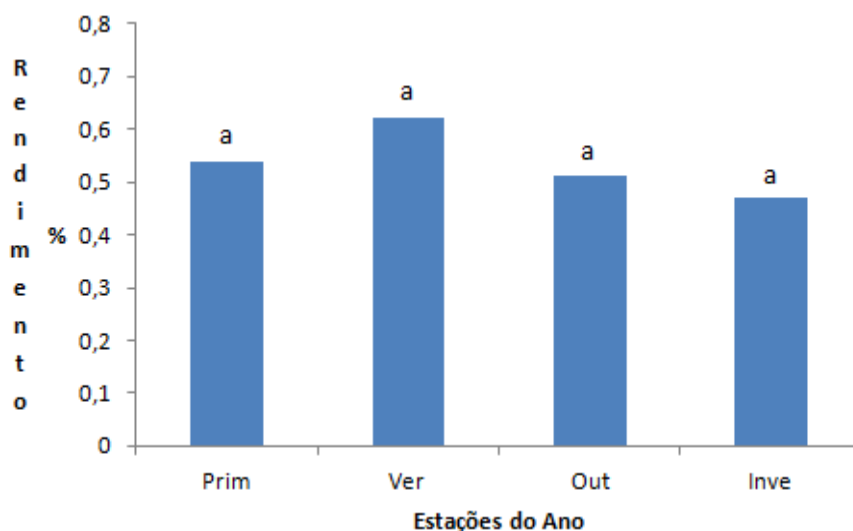


FIGURA 4. Rendimento em porcentagem de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas no Município de Porto Alegre, Faculdade de Agronomia da UFRGS, nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,01$ ).

Na Figura 5, são apresentados os valores obtidos para o acesso Jardim Botânico. Neste acesso a estação primavera foi a que obteve o menor rendimento com apenas 0,48%, seguido em ordem crescente, a estação inverno que apresentou 0,50%, outono com 0,58%; sendo a estação verão a que teve a maior rendimento de óleo com 0,69%, assim como o acesso da Agronomia.

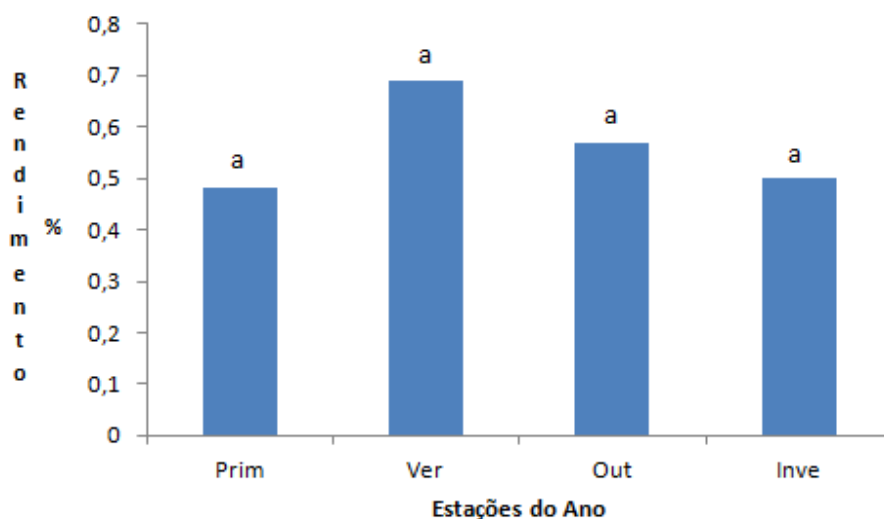


FIGURA 5. Rendimento de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletadas nas quatro estações do ano no Jardim Botânico, Porto Alegre/RS. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,01$ ).

Nos acessos de Porto Alegre (Agronomia e Jardim Botânico) (Figuras 4 e 5), o maior rendimento de óleo foi no verão, não apresentando diferenças significativas, já em Eldorado do Sul (Figura 3) na primavera, podendo essas diferenças estar relacionadas com a grande variabilidade genética presente nessa espécie. Pereira (2006) comenta que, quando se trabalha com produção de óleo essencial, cabe notar que plantas advindas de sementes, como a *C. sylvestris*, apresentam grande variabilidade quanto à morfologia e ao teor de metabólitos secundários.

Segundo Marchese & Figueira (2005), são vários os fatores que devem ser observados na hora da extração do óleo essencial, sendo um dos mais importantes e necessários a escolha de genótipos superiores que produzam grande quantidade de fitomassa e altos teores de princípios ativos ou complexos ativos.

Além da variabilidade genética que pode ter afetado o rendimento do óleo essencial de *C. sylvestris*, o fator sazonalidade (precipitação e pluviosidade) pode ter influenciado nos resultados. Alguns trabalhos referenciam que a espécie apresenta uma variação sazonal no rendimento de óleo. Spandre (2010), em trabalho para avaliar o rendimento de óleo essencial em cinco épocas de coleta: maio, junho, setembro e novembro de 2007 e janeiro 2008, observou que maio foi o mês que apresentou maior rendimento (0,4% de óleo), valor este inferior ao encontrado neste trabalho.

Spander (2010) concluiu que esta espécie apresenta variabilidade sazonal na produção de óleo essencial, sendo a melhor época de coleta o final do outono. Este resultado difere dos obtidos no presente trabalho, em que a espécie apresentou um maior rendimento no período de primavera/verão.

Castellani (2006) avaliou a produção de óleo essencial em função da época de colheita da plantas coletadas mensalmente no período de setembro de 1999 e agosto de 2000 em populações naturais da Mata Atlântica com temperatura média anual de 21 °C e precipitação anual média de 1.341mm. O teor de óleo essencial encontrado pelo autor variou de 0,62% a 1,12%, resultado este que foi superior aos obtido neste trabalho.

Em outro estudo realizado em Botucatu, no Estado de São Paulo, por Silva *et al.* (2002), avaliando o rendimento do óleo essencial, o autor obteve um rendimento de 0,6% de óleo essencial de *C. sylvestris*. Além de verificar a ocorrência de variação no rendimento do óleo, Silva (2004) encontrou diferenças na composição química dos compostos presentes no óleo essencial da espécie em função do bioma Mata e Cerrado.

Cabe ressaltar que, no período em que o presente trabalho foi realizado, as plantas das quais foram coletadas as folhas para extração de óleo essencial não



apresentaram florescimento, o qual, segundo Lorenzi (1998) deveria ocorrer durante os meses de julho e agosto, com maturação dos frutos a partir de setembro, até meados de novembro. No presente trabalho, os meses em que foram observados os maiores rendimentos foram aqueles que, segundo o referido autor, ocorreria à maturação dos frutos da espécie.

Provavelmente a não ocorrência destes estádios tenham oportunizado as plantas a priorização de energia na produção de metabólitos secundários, traduzido neste trabalho pelo maior rendimento de seu óleo essencial no período.

Castellani (2006), como citado anteriormente, estudou o rendimento de óleo essencial de *C. sylvestris* coletadas no período de setembro de 1999 e agosto 2000, e encontrou resultados contrários aos obtidos neste trabalho. Ele obteve um maior rendimento de óleo essencial nas coletas de outono/inverno, associando seus resultados com a fenofase da planta, sendo que no período em que foi realizado o seu trabalho as *C. sylvestris* floresceram normalmente.

Observa-se na Tabela 1 a média geral dos três acessos, o rendimento de óleo durante a primavera foi superior em relação às demais estações do ano, e o inverno, inferior.

Observa-se na Tabela 1 que não houve interação significativa entre os acessos e estações do ano para o rendimento dos óleos ( $p > 0,01$  – probabilidade da anova da interação). Os acessos entre si não diferiram estatisticamente. Já entre as estações do ano, o rendimento de óleo durante a primavera foi superior em relação às demais estações do ano, e o inverno, inferior.

TABELA 1. Análise de variância de rendimento de óleo essencial de I coletadas de três diferentes acessos nas quatro estações do ano. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Fator	GL	GL Erro	F calculado	p
Acesso	2	24	0,763	>0,050
Estação	3	24	5	0,0112
Interação	6	24	1.805	0,1405

Durante o período experimental, a temperatura média na época mais fria em Eldorado do Sul (outono/inverno) foi de 16,15 °C, e a do período mais quente (primavera/verão), de 22,47 °C (Figura 6). A precipitação pluviométrica foi variável, atingindo picos de até 120,6 mm no outono/inverno, seguida por valores médios de 135,5 mm, em primavera/verão, acumulando um total de 116,5 mm (Figura 8) durante todo o experimento em Eldorado do Sul.

Em Porto Alegre, a temperatura média no período mais frio (outono/inverno) foi de 18,42 °C, e a do período mais quente (primavera/verão), de 24,03 °C (Figura 7). A precipitação pluviométrica foi muito variável, atingindo picos de até 101,03, no outono/inverno, seguida por valores médios de 146,34, em primavera/verão, acumulando um total de 116,5 mm (Figura 8) durante todo o experimento em Porto Alegre.

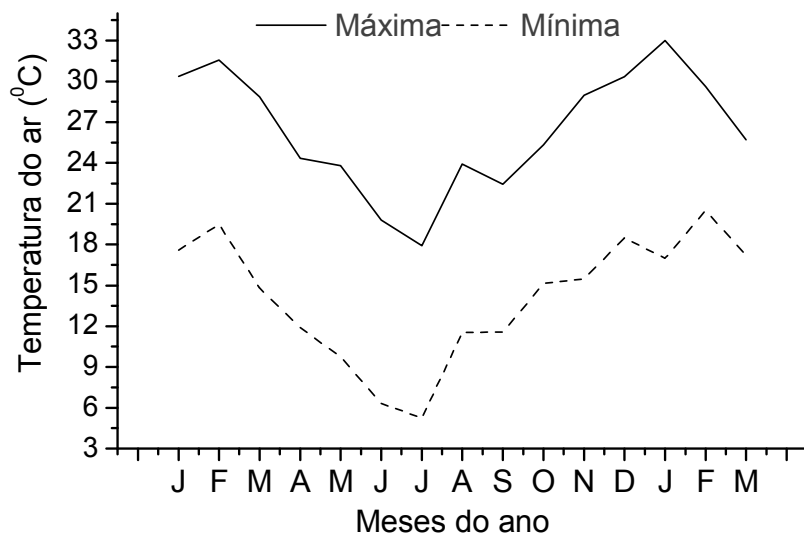


FIGURA 6. Dados mensais da média de precipitação, referente as estações dos anos de 2012 e 2013, dos municípios de Porto Alegre e Eldorado do Sul. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

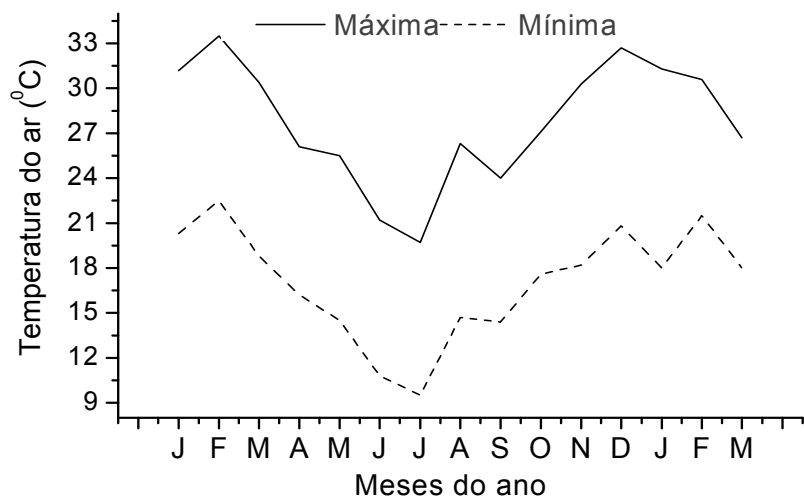


FIGURA 7. Dados mensais das temperaturas °C máximas e mínimas, referente ao período de janeiro de 2012 a março de 2013, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Durante o período experimental, a temperatura média na época mais fria em Eldorado do Sul (outono/inverno) foi de 16,15 °C, e a do período mais quente (primavera/verão), de 22,47 °C (Figura 7). Sugere-se que a queda de temperatura no inverno com média de 17,5 °C tenha prejudicado a produção de óleo essencial

nas plantas. Segundo Martins *et al.* (2000), isso se explica porque no inverno a taxa de crescimento das plantas reduz muito e, com isto, provavelmente, a produção dos metabólitos secundários também seja reduzida.

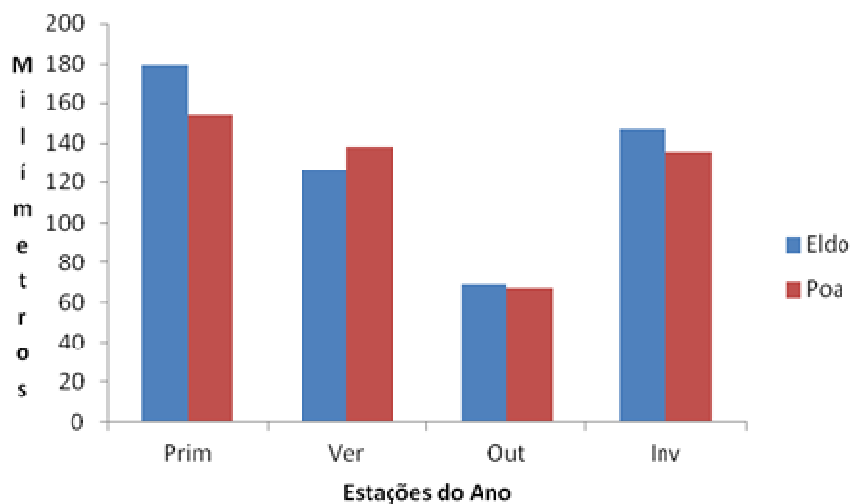


FIGURA 8. Dados mensais da média de precipitação, referente as estações dos anos de 2012 e 2013, dos municípios de Porto Alegre (Poa) e Eldorado do Sul (Eldo). UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Becker (2008) obteve defolhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em maio no município de Lajeado (RS), rendimento de 1% de óleo essencial, sendo que para região onde o experimento foi realizado a pluviosidade média foi de 137 mm. Os resultados de pluviosidade encontrados por Becker (2008) como sendo os que apresentaram melhor rendimento de óleo colaboram com a pluviosidade média encontrada neste trabalho, 146,34 mm na estação primavera/verão, estação esta em que também se observaram os maiores rendimentos.

Os resultados aqui obtidos vêm de encontro aos apresentados por Castellani (2006) em trabalho desenvolvido em Viçosa (MG), onde o autor observou que o teor de óleo essencial nas folhas variou de 0,62 a 1,12%. Para o autor, esse resultado se explica pelo fato de as plantas de *C. sylvestris* em maio

encontrarem-se na fase de repouso vegetativo, fator que provavelmente, segundo ele, induziu a maior produção de óleo essencial.

Silva (2006) avaliou o rendimento de OE de *Lippia alba* coletada em Ilhéus (Bahia), nas diferentes estações do ano, concluindo que na primavera, por coincidir com a época de maior crescimento da planta, apresentou o maior rendimento de óleo essencial, que foi inferior nas demais estações do ano.

Santos (2009) determinou a melhor época de coleta de *Cymbopogon citratus* para obtenção de um maior rendimento de óleo essencial. O autor concluiu que nos meses de setembro e outubro, quando a temperatura foi mais elevada, ocorreu um maior rendimento, quando comparados aos meses de julho, agosto, março e maio, em que ocorreu uma maior variação da temperatura.

Os resultados encontrados por Santos (2009) e Silva (2009) fortalecem os apresentados neste trabalho, que do mesmo modo encontraram nas estações com temperaturas mais elevadas o maior rendimento de óleo essencial.

Martins *et al.* (2000) citaram que o papel dos óleos essenciais é o de ajudar a planta a se adaptar ao meio ambiente, por isso sua produção aumenta em situações de estresse. Com isso acredita-se que as plantas colhidas no verão possuam maior teor de óleo essencial, podendo isto ser explicado pelo fato de elas encontrarem nesta estação condições de estresse hídrico e temperaturas elevadas, ocasionando maiores teores de óleo essencial nestas épocas do ano.

Porém, como colocado por Martins *et al.* (2000), é importante observar que óleos essenciais, na maioria das vezes, apresentam um aumento em seu teor quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperatura elevada; já em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos mesmos. A radiação solar também intervém diretamente sobre o crescimento e o

desenvolvimento da planta, e indiretamente, pelos efeitos no regime térmico, sendo fundamental à produção de fitomassa (Morais, 2009).

A variação da intensidade luminosa (irradiância) e temperatura durante o ano é função da sazonalidade. Em geral, para plantas de clima tropical que são termoperiódicas e heliófitas, as estações mais quentes e de maior radiação coincidem com a época de maior produção de biomassa. A mesma lógica vale para a produção de óleo essencial, em que geralmente a maior produção está associada a maior radiação e maior taxa fotossintética das plantas (Marchese, 2005).

As colocações feitas por Marchese (2005) corroboram com os resultados desse experimento, que demonstrou que *C. sylvestris* apresenta variabilidade sazonal na produção de óleo essencial, sendo a época de maior temperatura a que apresentou o maior rendimento. Consequentemente, as temperaturas encontradas nas estações primavera/verão que variaram de 22,47 °C a 24,03 °C entre os acessos se demonstraram as de maior rendimento.

Além de pesquisas relacionando o rendimento do óleo essencial com a sazonalidade, encontram-se na bibliografia pesquisas agronômicas conduzidas para investigar a influência da adubação sobre a biomassa e o rendimento de metabólitos secundários.

Essas pesquisas são de extrema importância, pois de acordo com diversos autores (Santos, 2002; Rodrigues & Carvalho, 2001), os estresses nutricionais podem induzir as plantas a uma maior produção de óleo essencial.

Na Tabela 2 podemos observar a análise química dos solos dos locais de coleta das amostras. Segundo Marchese (2005), é importante observar os componentes do solo, sendo que a deficiência nutricional pode afetar o teor das diversas classes de substância bioativas. A situação de deficiência moderada

muitas vezes têm se mostrado positiva no acúmulo de substâncias bioativas, sendo importante ressaltar que um aumento na concentração ou no teor de compostos secundários sob condição de estresse, não significa necessariamente um aumento no rendimento destes compostos, pois geralmente ocorre uma redução da fitomassa em face da concorrência por assimilados entre o metabolismo secundário (Marchese, 2005).

TABELA 2. Caracterização química dos solos coletados em Porto Alegre e Eldorado do Sul. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

	Eldorado do Sul	Jardim Botânico	Agronomia
pH	4,7	5,3	4,6
SMP	6,4	5,9	5,9
P mg/dm <sup>3</sup>	6,78	15,1	3,4
K mg/dm <sup>3</sup>	110,6	111,5	66
M.O %	3,14	1,7	1,3
Al cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	0,7	0,1	1,3
Ca cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	2,3	2,9	2,3
Mg cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	1	0,8	1,05
Al+H cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	4,38	5,2	5
CTC cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	8,08	9,2	8,6
Ca/Mg	2,4	3,7	2,3
Ca/K	8	6,8	22
Mg/k	3,6	4	10,6
S mg/dm <sup>3</sup>	16	8,3	33
Zn mg/dm <sup>3</sup>	1,8	4,4	3,2
Cu mg/dm <sup>3</sup>	4,5	1,15	1,2
B mg/dm <sup>3</sup>	0,5	0,6	0,4
Mn mg/dm <sup>3</sup>	48	36	64

Ainda segundo Marchese (2005), o comportamento das plantas em condição de estresse, sob carência de nutrientes, pode estimular a produção de uma determinada classe de compostos.

Pode-se observar na Tabela 2 que o pH dos solos onde se encontravam as plantas deste experimento estiveram entre 4,6 e 5,3. Unander & Blumberg (1990) citam que alguns princípios ativos das plantas medicinais podem ser influenciados pelas condições do solo onde estão inseridas, como fertilidade do solo e pH

abaixo de 4,0. Usando essas informações como referência, nota-se que neste experimento o pH, embora baixo para o desenvolvimento de plantas cultivadas, mostrou-se em níveis adequados para a produção de diferentes princípios ativos.

Segundo Souza (2008), o teor de alumínio no solo é um elemento que pode vir a prejudicar o desenvolvimento das plantas quando presente em uma grande quantidade, se tornando um fator indesejável. Porém, neste caso, os valores de alumínio foram adequados (0,0 a 1,9), não interferindo no desenvolvimento da planta. Ainda, neste sentido, Souza (2008) sugere que os valores aceitáveis para um maior desenvolvimento da planta e rendimento de óleo essencial seriam de até 5 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> de Al.

A maior quantidade de fósforo (P) foi encontrado no Solo do Acesso Jardim Botânico, sendo 15,1 mg/dm<sup>3</sup>. Se avaliarmos as plantas localizadas nesse solo, o rendimento médio comparado aos outros acessos não foi superior, concluindo que para plantas não domesticadas as quantidades de fósforo (P) presentes no solo não apresentam uma influência mais efetiva sobre o rendimento de óleo essencial.

Resultados diferentes foram encontrados por Bueno (2005), que observou um maior rendimento de óleo essencial em tomilho (*Thymus vulgaris* L.) cultivado em solução nutritiva com diferentes níveis de P. No trabalho, as plantas que foram submetidas a maiores níveis de P (46,5 mg/L) apresentaram em todas as colheitas conteúdos mais elevados de óleo essencial.

No entanto, segundo David (2007), plantas de *Mentha x piperita* cultivadas com o menor nível de P apresentaram maior rendimento de óleo essencial, concluindo assim que a variação dos níveis de fósforo interfere na produção de óleo essencial de *Mentha x piperita*.



Piccaglia *et al.* (1993) avaliaram, durante dois anos consecutivos, diferentes níveis de P, de 0, 75, 150 kg ha<sup>-1</sup> e de nitrogênio iguais a 0, 100, 200 kg ha<sup>-1</sup>, concluindo que as duas épocas de plantio e os níveis de N e P fornecidos não influenciaram na composição do óleo essencial de menta, mas influenciaram o aumento da biomassa e rendimento do óleo essencial.

Martins (2006) avaliou a variação no rendimento do óleo essencial de plantas de *Hyptis suaveolens* cultivadas em casa de vegetação, influenciada pela disponibilidade de macronutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio). O autor concluiu que a disponibilidade de NPK é um fator importante para rendimento do óleo essencial da espécie, reforçando a relação entre rendimento do óleo essencial e fatores edáficos. O autor verificou que as plantas dos tratamentos deficientes em NPK apresentaram maiores teores de óleo.

Quando avaliamos a presença de Ca na Tabela 2, os valores ficaram entre 1,3 e 3,2. cmol/dm<sup>3</sup>. Fazio (2011) observou em *Mentha x piperita* que a quantidade adequada e com qualidade satisfatória pode ser obtida com o cultivo em solução contendo 40 e 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>, sendo que o Ca<sup>2+</sup> influencia de modo discreto o rendimento de óleo essencial, interferindo na sua composição química (Fazio, 2011).

A grande maioria dos trabalhos demonstra uma correlação positiva entre a nutrição das plantas e o maior rendimento do óleo essencial. Os dados apresentados na Tabela 2 servem de base para novos estudos, sendo preliminar dizer que *C. sylvestris* apresenta uma maior produção de óleo essencial na presença ou ausência de algum nutriente do solo.

Segundo Silva (2003), para a determinação de melhor solo, temperatura e condições meteorológicas para uma espécie, seria necessário, além do cultivo da mesma sob condições ambientais iguais, o estudo fitoquímico detalhado,

observando a presença ou ausência e a quantificação de cada composto, dando ênfase aos compostos encontrados majoritariamente.

Para uma confiabilidade dos dados seria necessário domesticação da planta e realização de trabalhos com plantas cultivadas, usando adubação controlada. Desta forma, a *C. sylvestris* poderia apresentar respostas diferentes de rendimento e composição química.

#### 4.1.1 Composição do óleo essencial

Pelas análises químicas do óleo essencial (Tabela 3) presentes nos três acessos, percebe-se que foi possível identificar 47 constituintes químicos de *C. sylvestris*.

TABELA 3. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos nas diferentes estações do ano em dois acessos coletados em Porto Alegre e um acesso em Eldorado do Sul. UFRGS/RS, 2012-2013. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Número de Substâncias	Substâncias	Ik cal (Alencar et al. 1984)	Ik lit (Adams, 1995)
1	$\alpha$ -pineno	931	939
2	$\beta$ -pineno	974	979
3	$\delta$ -elemeno	1338	1339
4	$\alpha$ -cubebeno	1349	1348
5	Ciclosativeno	1364	
6	$\alpha$ -copaeno	1375	1376
7	$\beta$ -cubebeno	1390	1388
8	$\beta$ -elemeno	1392	1391
9	$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409
10	trans-cariofileno	1420	1419
11	$\beta$ -gurjuneno	1429	1432
12	Nd	1437	
13	$\gamma$ -elemeno	1439	1434
14	Aromadendreno	1439	1439
15	$\alpha$ -humuleno	1454	1454
16	<i>E</i> - $\beta$ -farneseno	1457	1456

continuação TABELA 3. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos nas diferentes estações do ano em dois acessos coletados em Porto Alegre e um acesso em Eldorado do Sul. UFRGS/RS, 2012-2013. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

17	allo-aromadendreno	1461	1461
18	$\beta$ -acoradieno	1467	1470
19	$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477
20	$\gamma$ -muuroleno	1475	1479
21	germacreno D	1481	1485
22	$\beta$ -selineno	1486	1490
23	Biciclogermacreno	1498	1494
24	germacreno A	1505	1503
25	E,E- $\alpha$ -farneseno	1508	1508
26	$\gamma$ -cadineno	1515	1513
27	cis-calameneno	1523	1521
28	$\delta$ -cadineno	1524	1524
29	trans-calameneno	1532	1532
30	selina-3,7(11)-dieno	1542	1545
31	germacreno B	1559	1561
32	E-nerolidol	1559	1564
33	Palustrol	1567	1568
34	Espatuleno	1577	1576
35	óxido de cariofileno	1584	1583
36	Viridiflorol	1591	1592
37	cubeban-11-ol	1594	1595
38	Guaiol	1595	1598
39	Rosifoliol	1602	1600
40	Ledol	1602	1602
41	1-epi-cubenol	1628	1628
42	epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642
43	Cubenol	1642	1642
44	$\beta$ -eudesmol	1649	1650
45	$\alpha$ -cadinol	1654	1654
46	Bulnesol	1666	1667
47	(E,E)-farnesol	1722	1722

IK cal= Índice de Kovats calculado

IK Lit= Índice de Kovats de literatura

Nd= não identificada

Os 46 compostos identificados apresentaram percentuais diferentes entre as estações do ano e não estavam presentes em todas as amostras estudadas.

Nas Tabelas 4, 5 e 6, podemos observar que os componentes Bicyclogermacreno e *trans*-cariofileno estão presentes nos três acessos, o germacreno D foi encontrado no acesso Eldorado do Sul e no Jardim Botânico, e  $\alpha$ -humulenosamente no Jardim Botânico,  $\gamma$ -cadinenosamente em Eldorado do Sul e  $\delta$ -elemeno e  $\beta$ -elemeno no acesso Agronomia. Os mesmos componentes majoritários foram observados nas 4 estação do ano, em cada acesso, diferindo somente na quantidade.

Em trabalho realizado por Tininis (2006) em Botucatu/SP com *C. sylvestris* estudando a composição do óleo essencial, o autor observou que a composição majoritária apresentava-se diferenciada para as amostras de folhas coletadas ao amanhecer e à tarde. Pela manhã, os constituintes principais foram longifoleno (1,8%),  $\beta$ -selineno (4,2%), germacreno-D (79,2%) e germacreno-B (14,8%). À tarde, os constituintes principais foram identificados como: longifoleno (3,2%),  $\beta$ -gurjuneno (1,1%),  $\gamma$ -muuroleno (3,0%), g-gurjuneno (2,2%),  $\beta$ -selineno (5,2%), germacreno-D (66,2%), bicyclogermacreno (5,2%),  $\delta$ -cadineno (1,7%), germacreno-B (13,7%). Com isso, Tininis (2006) concluiu que a dinâmica metabólica é influenciada pelo período de coleta.

Dos componentes majoritários encontrados em folhas de *C. sylvestris* no período da manhã e da tarde no trabalho de Tininis (2006), três também foram identificados neste trabalho, sendo: germacreno-D, bicyclogermacreno,  $\delta$ -cadineno.

TABELA 4. Variação da composição química de óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* coletas na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e no Jardim Botânico de Porto Alegre. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substância	Variação da Composição População Faculdade de Agronomia (proporção relativa, área%)							
	Primavera	Média	Verão	Média	Outono	Média	Inverno	Média
Biciclogermacreno	5,37 -33,60	9,45	2,29 -36,78	17,09	1,76 -36,39	13,45 <sup>a</sup>	1,23 -36,61	17,27
$\beta$ -elemeno	2,12 -76,95	19,69	1,95 -74,40	20,08	2,12 -76,65	31,43	1,17 -72,42	11,35
trans-cariofileno	1,36 -25,48	10,13	0,71 -20,72	10,71	0,82 -21,82	7,71	0,90 -53,83	12,6
$\delta$ -elemeno	0,30 -14,03	7,4	0,37 -14,96	7,38	0,45 -15,34	7,89	0,40 -14,58	7,49
Variação da Composição População Estação Experimental (proporção relativa, área%)								
trans-cariofileno	3,55 -53,21	20,09	0,71 -50,82	17,91	0,70 -50,06	16,75	4,86 -30,85	20,07
Biciclogermacreno	9,43 -29,71	16,45	5,20 -32,71	16,05	5,35 -34,51	15,46	9,68 -32,97	15,57
$\delta$ -cadineno	0,99 -17,03	10,69	0,13 -21,21	9,04	0,14 -21,27	9,66	1,85 -18,00	11,41
germacreno D	2,01 -19,49	7,17	2,04 -19,17	7,44	tr -18,82	6,11	1,97 -37,48	19,72
Variação da Composição População Jardim Botânico (proporção relativa, área%)								
$\alpha$ -humuleno	0,26 -63,64	21,19	0,48 -44,08	16,44	0,44 -64,73	19,05	2,07 -64,97	26,93
germacreno D	1,35 -72,88	15,78	1,54 -74,22	15,56	1,31 -73,11	17,21	1,10 -14,87	7,97
trans-cariofileno	2,91 -15,59	11,9	2,26 -15,41	11,17	2,43 -15,47	10,76	16,54 -25,47	18,37
Biciclogermacreno	2,47 -28,34	10,07	2,62 -28,83	10,68	2,59 -29,30	11,93	2,44 -19,98	11,4

Silva (2004) identificou onze compostos químicos que apresentaram percentuais diferentes e não estavam presentes em todas as amostras nos dois biomas estudados (Mata Atlântica e Cerrado) coletados no inverno. Os resultados mostraram que, para as amostras da Mata Atlântica, o componente majoritário foi o trans-beta-guaieno (33%), o qual não foi encontrado nas amostras do cerrado para as plantas avaliadas. No presente trabalho realizado com coletas em Porto Alegre e Eldorado do Sul, este componente não foi encontrado em nenhuma das estações do ano.

Segundo Carvalho (2006), essas alterações na composição química dos óleos essenciais pode estar relacionada com a ligação entre as variações de temperatura e a atividade metabólica das plantas (Carvalho Filho, 2006).

Além das características ambientais do local onde as plantas estão inseridas que podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários, a composição química dos óleos essenciais é determinada principalmente por fatores genéticos, os quais sofrem alteração. De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente (Morais, 2009).

As diferenças de composição do óleo essencial entre acessos foram estudadas por Cavallari (2008), que constatou em seu experimento estudando a diversidade de casearinas que diterpeno ocorre em grande quantidade nas folhas de *C. sylvestris*, que o ambiente, sozinho, não é capaz de alterar a produção de casearinas dado um determinado genótipo; ao contrário, o genótipo parece ter grande importância para a determinação das casearinas que são produzidas, devendo existir uma norma de reação para sua produção.

Na composição do óleo essencial de *C. sylvestris* deste trabalho, encontra-se em porcentagem do componente químico *trans*-cariofileno, nas plantas

estudadas, esse sesquiterpeno sintetizado pelas plantas na rota metabólica dos terpenos, também importante constituinte do óleo essencial.

Os sesquiterpenos predominantes no óleo essencial das *C. sylvestris* foram trans-cariofileno,  $\alpha$ -humuleno e germacreno-D. Esses sesquiterpenos apresentam substâncias com ampla atividade antibacteriana, antifúngica e inibidores enzimáticos (Abraham, 2001 apud Almeida, 2005).

Trans-cariofileno, germacreno-D,  $\alpha$ -humuleno foram os compostos mais abundantes encontrados no óleo essencial da *C. sylvestris*, os quais, segundo a literatura, apresentam atividades antibacterianas, fungicidas e inseticidas (Almeida, 2005).

A identificação de componentes oriundos do metabolismo secundário de plantas, presentes nos óleos essenciais, que exercem efeito no controle de doenças, torna-se uma ferramenta auxiliar a indústria química quanto à prospecção de novos produtos (Lorenzetti, 2011).

A época de colheita das plantas medicinais não deve ser determinada visando só o conteúdo de óleo essencial em termos de quantidade, mas também a obtenção de um teor mínimo de princípios ativos, sem o qual o produto não tem valor para a produção de fitoterápicos (Spandre, 2010).

## **4.2 Estudo 2. Controle *in vitro* de *Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola* através do óleo essencial e extratos aquoso de *Casearia sylvestris***

### **4.2.1 Uso do Extrato aquoso**

Dentre os métodos testados o escolhido por apresentar um método mais eficiente foi no qual foram usados 20 g de folhas frescas, coletadas do acesso Agronomia no período de primavera/verão, foram lavadas com água corrente e trituradas em liquidificador com 100 mL de água destilada e posteriormente levado para o micro-ondas por 1 minuto. A solução foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 1 e recolhida em um erlenmeyer devidamente identificado.

Para os quatro fungos (*Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola*) testados com o extrato aquoso de *C. sylvestris* coletadas na população Agronomia na primavera, observou-se que nenhum dos tratamentos inibiu o crescimento micelial dos patógenos testados. Na Figura 9, é possível constatar o crescimento do fungo *Alternaria alternata* nos três tratamentos testados (testemunha, 80% e 100%), tendo sido obtido o mesmo resultado para as demais espécies analisadas (dados não apresentados). De acordo com Brum (2012), é possível que os compostos antifúngicos sintetizados pelas plantas se concentrem no óleo essencial, e se encontrem em pequenas quantidades no extrato aquoso. Por outro lado, Bento (2013) utilizou extrato de *C. sylvestris* a base de álcool etílico, com o objetivo de estudar os efeitos do extrato vegetal contra os fungos *Trametes villosa*, *Ganoderma australe* e *Pycnoporus sanguineus* e conseguiu resultados promissores contra os fungos estudados.

Não foram utilizados extratos etanólicos para evitar que sua atividade mascarasse propriedades do extrato vegetal. Novas avaliações são necessárias,



utilizando diferentes metodologias para preparação dos extratos aquosos, para que esses extratos possam vir a ser utilizados de maneira alternativa para o controle de patógenos em plantas. O extrato aquoso de *C. sylvestris* preparado nesse experimento não foi capaz de inibir o crescimento dos fungos testados.

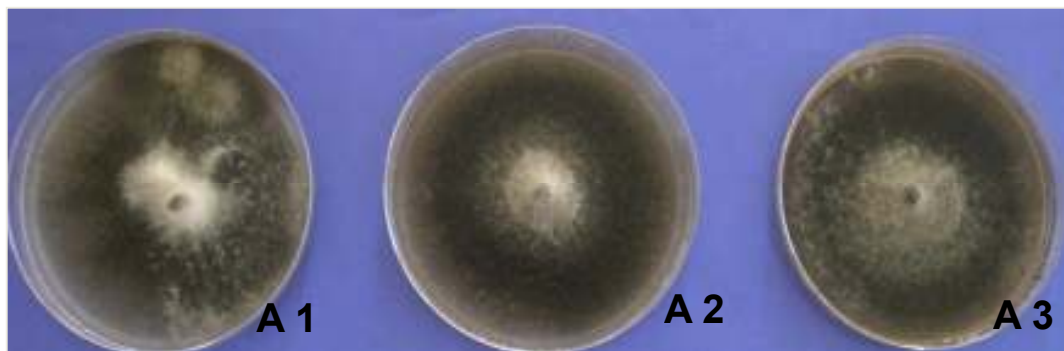


FIGURA 9. Placa contendo somente meio BDA (A1) e com meio BDA e extrato de folhas de *Casearia sylvestris* nas concentrações de 100% (A2) 80% (A3) demonstrando *in vitro* do crescimento micelial de *Alternaria alternata*. Fepagro, Porto Alegre, RS, 2012.

Benini (2010) conseguiu resultados promissores utilizando o extrato bruto aquoso de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), folhas coletadas nas quatro estações do ano. Com as plantas colhidas no outono, o autor encontrou os melhores resultados, sendo que nesta estação do ano o extrato bruto aquoso na concentração de 5% foi suficiente para promover 100% de inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata* apresenta-se promissor para o controle de patógenos e que plantas colhidas no outono e verão apresentam maior teor de substâncias com características fungicidas (Benini, 2010).

Neste estudo não foram testados extratos de diferentes épocas como Benini testou, sendo que a maior parte do experimento foi desenvolvida na primavera e no verão. Sabe-se que a planta apresenta diferença na sua composição nas distintas épocas do ano, podendo afetar o maior teor de

substâncias com características fungicidas do extrato de *C. sylvestris*. Com isso, novos trabalhos podem ser realizados utilizando extrato de folhas coletadas em diferentes estações do ano.

Balbi-Peña (2006) com o objetivo de avaliar a fungitoxidade *in vitro* dos extratos de cúrcuma e com curcumina (substância extraída da raiz da cúrcuma) contra *Alternaria solani* fungo pertencente à família Pleosporaceae, utilizou extratos brutos aquosos de rizomas de cúrcuma nas concentrações de 0, 1, 5, 10 e 15% e curcumina nas concentrações de 0, 50, 100, 200 e 400 mg/L. Os extratos de cúrcuma a 10 e 15% inibiram em 8,2% e 2,2%, respectivamente, o crescimento micelial. A curcumina inibiu o crescimento micelial em 2,5% na maior concentração.

Os resultados obtidos pelo autor comprovam, mesmo que em baixa porcentagem, a eficiência do extrato aquoso de algumas plantas para a inibição do crescimento dos fungos.

#### **4.2.2 Uso do óleo essencial**

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados da atividade antifúngica de soluções preparadas com óleo essencial de *C. sylvestris* sobre os fungos testados. Observa-se que as diferentes concentrações testadas agiram inibindo o crescimento micelial dos fungos. A Tabela 2 revela que houve diferença significativa entre a testemunha (T1) e o T2 (1,5%) e o T3 (2,5%), constatando que o óleo de *C. sylvestris* reduziu significativamente o crescimento do diâmetro médio das colônias de *Botrytis* sp., *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola*.

Guntzel (2008) já havia encontrado uma atividade moderada do óleo de *C. sylvestris* frente a fungos e bactérias. A atividade mais expressiva foi encontrada

para as seguintes bactérias: *Staphyococcus aureus*, *Staphyococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto para os fungos *Candida albicans*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* e *Candida glabrata*, a atividade do óleo essencial não foi significativa.

Souza e colaboradores (2005) explicam que a maior ou menor atividade biológica dos óleos essenciais é dependente de alguns constituintes químicos em especial, porém é importante comentar que devido à complexidade da composição química de um óleo essencial, torna-se difícil relacionar a atividade biológica com as substâncias presentes. Geralmente, a ação atribuída a um composto isolado pode não ser exata, devido a possíveis interações que podem ocorrer entre os compostos do óleo (Apel, 2001).

Trans-cariofileno, germacreno-D,  $\alpha$ -humuleno, segundo a literatura apresentam atividades antibacterianas, fungicidas, inseticida e inibidores enzimáticos e foram os compostos mais abundantes encontrados no óleo essencial da *C. sylvestris*, referindo a esses compostos a alta atividade fungicida encontrada no óleo. (Abraham, 2001 apud Almeida, 2005 e Almeida, 2005).

TABELA 5. Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina*, *Alternaria brassicicola* e *Botrytis* sp, apresentados em centímetros, em função do tratamento com solução de óleo essencial de *Casearia sylvestris*. Fepagro, Porto Alegre, RS, 2012.

Concentração	<i>A. alternata</i> *	<i>A. radicina</i> *	<i>A. brassicicola</i> *	<i>Botrytis</i> sp*
0%	6,9 a	3,41 a	3,58 a	5,21 a
1,5%	1,35 b	0,65 b	0,35 b	0,03 b
2,5%	0 c	0 b	0 b	0 b
CV%	4,03	13,26	7,54	11,97
P>0,01	0,0001	0,0012	0,0001	0,0001

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Duncan ( $p>0,01$ ).

\* Dados transformados (Raiz de X +1).

Para as concentrações de 2,5% de óleo a inibição foi de 100% para todos os fungos, e para a concentração de 1,5%, a inibição foi de 80% para *A. alternata* de 81% para *A. radicina*, 90% para *A. brassicicola* e para *Botrytis* sp 94% e sem a presença de óleo essencial (Tabela 5).

Esses resultados podem ser mais bem visualizados na Figura 10, onde podemos observar a diminuição do crescimento micelial com o aumento da concentração do óleo essencial de *C. sylvestris*, com destaque para Figura 10 D1, D2 e D3, onde o óleo foi capaz de inibir 100% o crescimento micelial de *Botrytis* sp.

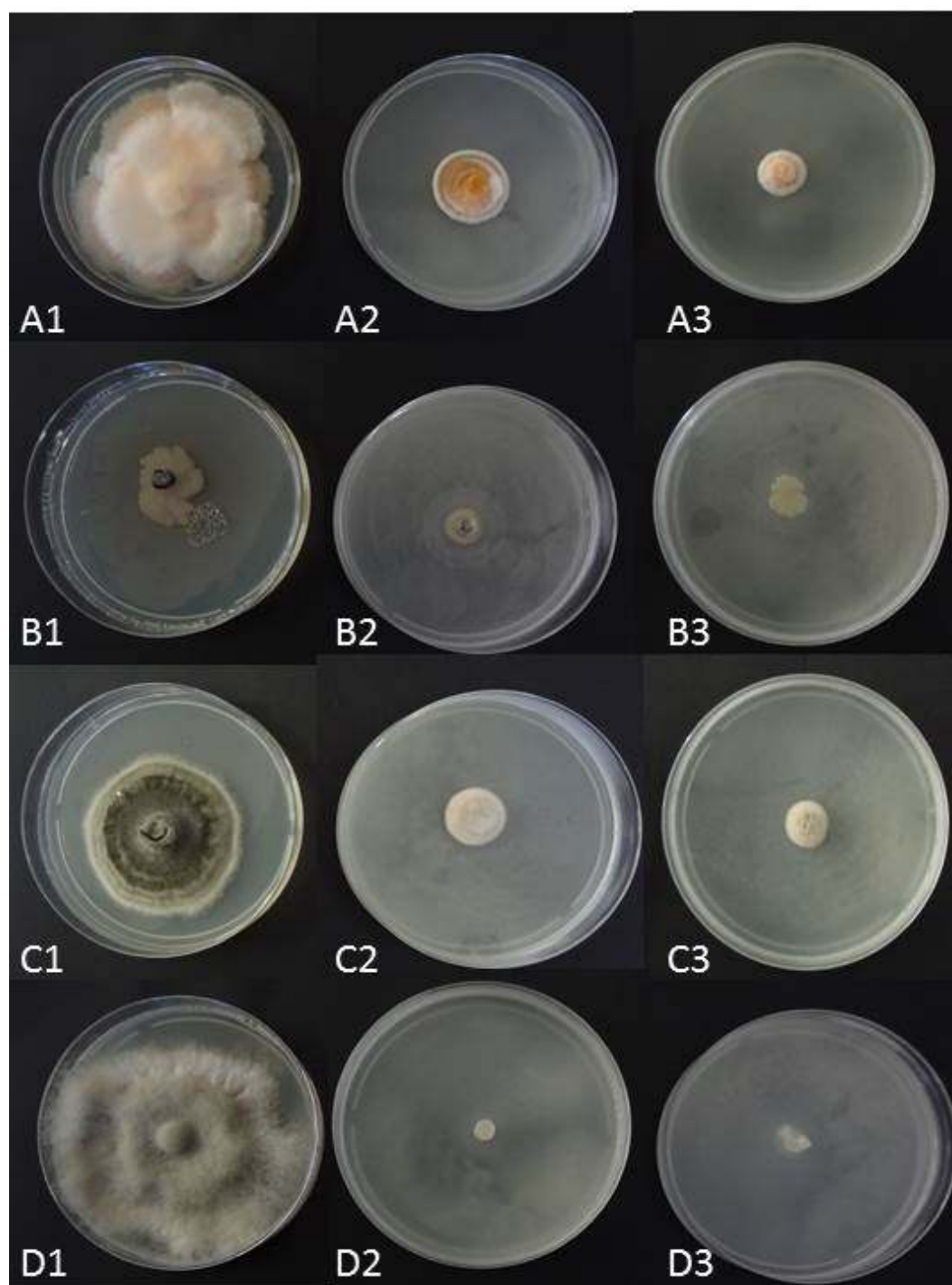


FIGURA 10. Placas contendo meio BDA (A1, B1, C1 e D1) os fungos e com meio BDA e extrato de óleo essencial de *Casearia sylvestris* nas concentrações de 1,5% (A2, B2, C2 e D2) e 2,5% (A3, B3, C3 e D3) respectivamente demonstrando a inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Alternaria alternata* (A), *Alternaria radicina* (B), *Alternaria brassicicola* (C) e *Botrytis sp.* (D). Fepagro, Porto Alegre, RS, 2012.

Os resultados obtidos com este estudo demonstram que o óleo essencial de *C. sylvestris* apresenta atividade antifúngica contra *Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola* a partir de testes *in vitro*. Novas pesquisas devem ser realizadas em condições de casa-de-vegetação e campo, para que assim a solução de óleo essencial de *C. sylvestris* possa ser recomendada para o uso em um sistema orgânico de produção, tornando-se uma alternativa viável para controle de patógenos.

Avaliando o uso de óleos essenciais de capim-limão, palmarosa, citronela, cravo, canela, menta, lavanda, tangerina, eucalipto, melaleuca, alecrim e laranja sobre isolados de *Botrytis cinerea*, causador do mofo cinzento em morangueiro, Lorenzetti (2011) concluiu que os diferentes óleos apresentaram eficiência, contudo capim limão, palmarosa, canela e menta demonstraram os melhores efeitos em todos os testes realizados. Segundo o autor, todos os tratamentos à base de óleos demonstraram efeito semelhante a um fungicida recomendado para a cultura, a base de tiofanato metílico. Óleos essenciais mostram-se cada vez mais uma opção promissora para o desenvolvimento de possíveis produtos fitossanitários para o manejo de doenças em plantas (Lorenzetti, 2011).

Segundo Santos (2010), resultados promissores foram encontrados com o uso de OE de *Schinus molle*, sendo esse efetivo para inibição de *Alternaria* spp. *Botrytis* spp. *Colletotrichum* spp. e *Fusarium* spp., e o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* apresenta efeito fungicida mais pronunciado contra *Botrytis* spp., a partir de testes *in vitro*.

### 4.3 Estudo 3. Anatomia da origem e do desenvolvimento de raiz adventícia em estacas *Casearia sylvestris*

Na Figura 11, é possível observar, em corte transversal, os tecidos que compõem o caule durante o crescimento secundário, sendo o corte representado semilenhoso, por ainda não ter se desenvolvido, que é um tecido de revestimento em órgãos que apresentam crescimento secundário típico.

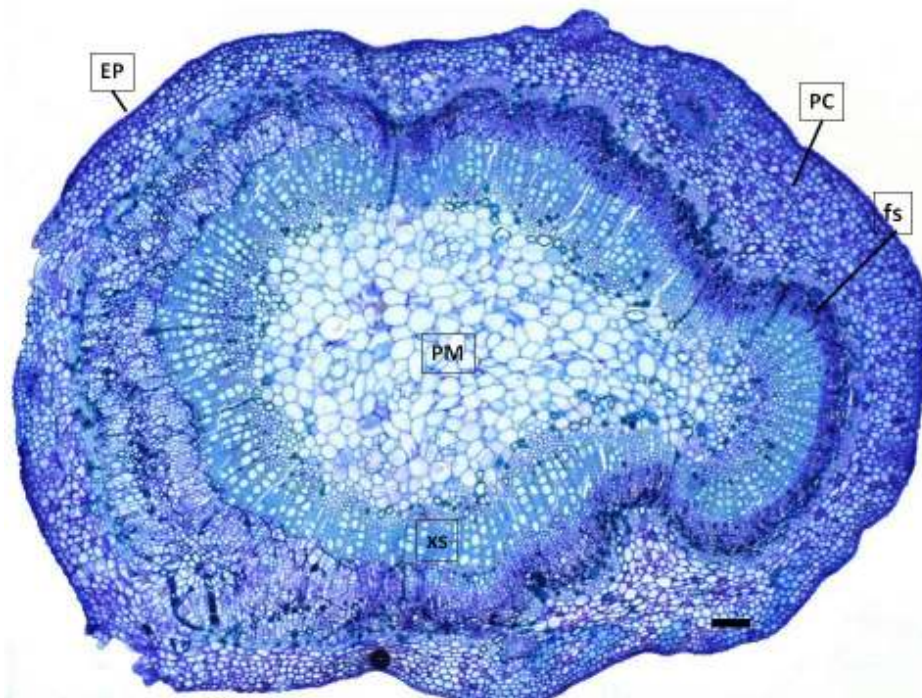


FIGURA 11. Corte histológico transversal feito na estaca semilenhosa de *Casearia sylvestris*. EP= epiderme; PC= parênquima cortical; fs= floema secundário; xs= xilema secundário; PM= parênquima medular; Barra= 100  $\mu$ m ESCAL/UFV, Viçosa-MG, 2013.

Nos cortes realizados observa-se a presença de epiderme unisseriada (EP), sendo este um tecido de revestimento responsável principalmente pela proteção e regulação hídrica das plantas. O córtex (PC) se caracteriza por ser uma região homogênea composta apenas de tecido parenquimático envolvido com a fotossíntese, o armazenamento e a secreção (Raven, 2007). Logo em seguida podemos observar o floema secundário (fs), que é derivado do câmbio, sendo esse um meristema lateral que é uma linha de células entre o xilema e o

floema. O floema secundário apresenta como principal função a condução de materiais orgânicos e inorgânicos em solução nas plantas vasculares (Machado *et al.*, 2006).

Externamente ao xilema secundário (xs) observa-se o câmbio vascular, que é um meristema primário. O parênquima medular pode ser observado no centro do corte, distribuição padrão para caule de dicotiledôneas (Raven, 2007).

Observa-se (Figura 12, A e B) o rompimento da epiderme e o início de uma multiplicação celular. Na Figura 9C, tem-se o aumento da produção de células parenquimáticas desorganizadas e o surgimento de calo, em direção ao Floema Secundário. Teoricamente, tal fato pode estar relacionado com a capacidade das células do câmbio vascular desdiferenciar-se, por serem células meristemáticas (Bastos, 2006). Na Figura 12 D está destacado, na lateral do calo, o começo de uma organização celular característica de raiz adventícia, onde já se pode identificar a formação de xilema e floema primários. Observa-se na mesma figura uma etapa mais avançada.

Em estacas com 30 dias observa-se os campos morfogênicos da raiz começam a ser observados. No corte D da Figura 12, pode-se ver a formação da raiz.

Em estacas semilenhosa de *C. sylvestris* não foi observada nenhuma barreira mecânica anatômica que pudesse prejudicar a emissão de raízes adventícias, observando-se um grande número de raízes emitidas em toda a extensão do caule, que não se limitam apenas à base da estaca.

Em estacas de *C. sylvestris* pode-se observar, na Figura 12 C e D, que a indução começa com uma desdiferenciação das células e formação de calos; a partir desses calos uma reorganização e o início da formação das raízes.



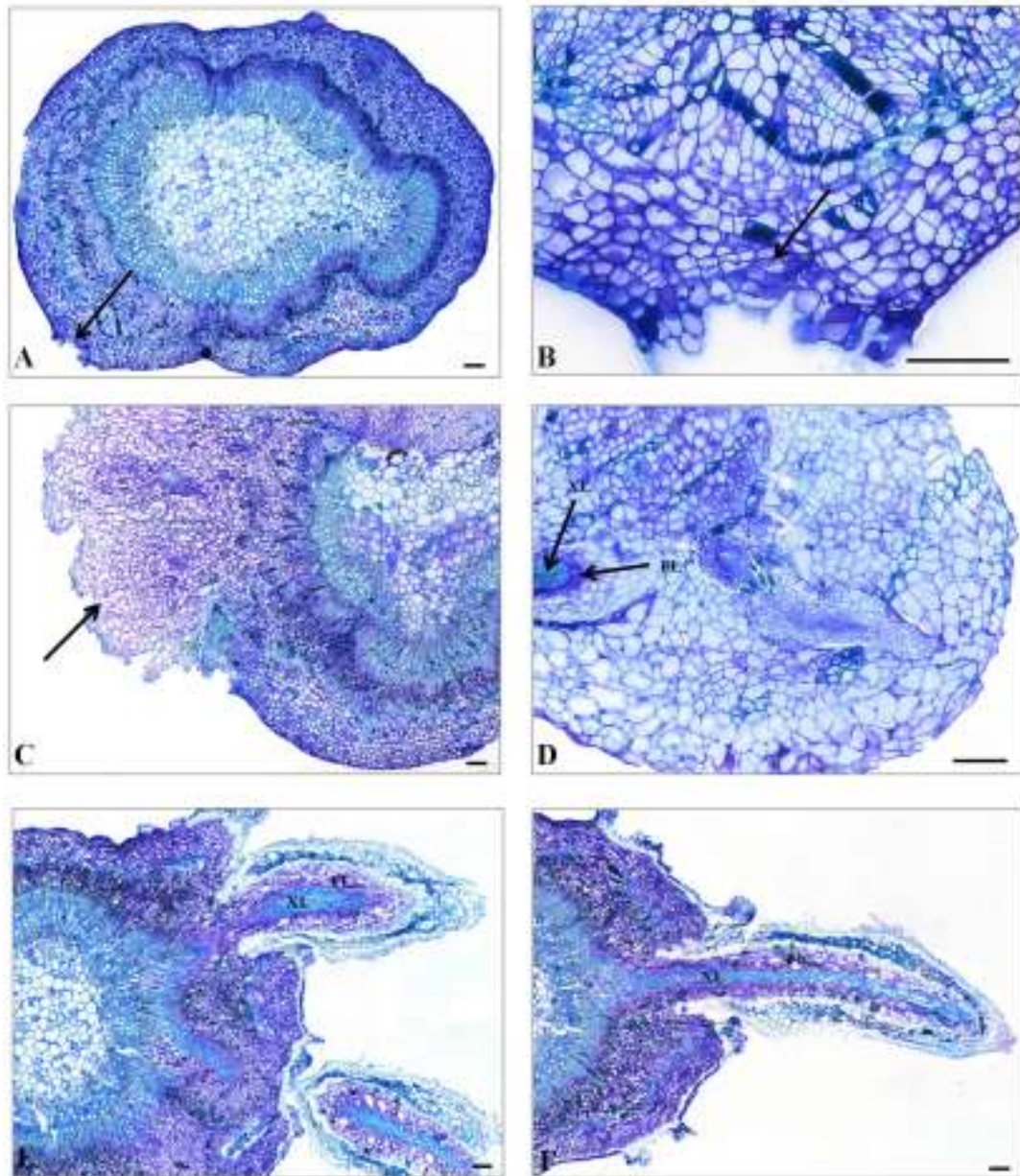


FIGURA 12. Cortes transversais em estacas de *Casearia sylvestris* A, B: estaca após 15 dias de instalação do experimento. A e B; corte histológico feito na estaca semilenhosa de *Casearia sylvestris* após 30 dias da instalação do experimento C e D; após 45 da instalação do experimento, E e F. Barra= 100  $\mu$ m ESCAL/UFV. UFV, Viçosa, MG, 2013.

Segundo Altamura (1996), existem dois padrões de formação de raízes adventícias, sendo um deles através do desenvolvimento direto da raiz a partir dos tecidos caulinares, e o outro que consiste em um processo indireto, com

formação de calos antecedendo a formação das raízes, sendo que o segundo processo foi o observado no enraizamento de *C. sylvestris*.

Na Figura 13, após 45 dias da estaquia, observa-se o enraizamento completo das estacas de *C. sylvestris*, com raiz bem desenvolvida apresentando vasos de condução floema e xilema, sendo que as características anatômicas das estacas facilitam a formação de raízes. Em destaque o observa-se o início da formação de novas raízes em meio ao calo.

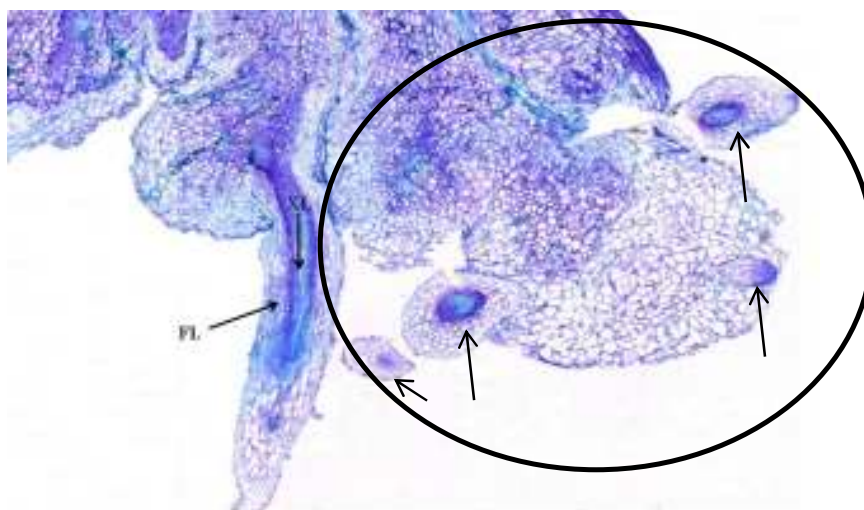


FIGURA 13. Corte longitudinal de estaca semilenhosa de *Casearia sylvestris* após 45 dias da instalação do experimento, enraizamento completo. Barra= 100  $\mu$ m ESCAL/UFV. UFC, Viçosa, MG, 2013.

Segundo Lovell e White (1986), algumas observações são importantes, como espécies que apresentam barreiras anatômicas específicas, dificultando a formação de raízes, como a presença de fibras no floema primário do caule, que pode formar um anel contínuo nesta região, podendo assim bloquear mecanicamente os primórdios de raiz e em caules mais velhos podendo constituir um obstáculo no desenvolvimento das raízes.

Essas observações feitas por Lovell (1986) não foram observadas no trabalho realizado com *C. sylvestris*, sendo que a mesma apresentou bom enraizamento sem a presença de barreiras anatômicas que pudessem prejudicar seu desenvolvimento.

Carrera Garcia (1977) observou em *Pinus* spp. que muitas estacas formam calos, mas não necessariamente conseguem emitir raízes. Isto ocorre pelo fato de serem processos fisiológicos independentes. As raízes podem originar-se a partir de parênquima interfascicular em ramos novos, e dos raios vasculares em ramos mais velhos, enquanto que os calos têm origem nas células da região do câmbio vascular e do floema. Em estacas lenhosas de *Sebastiania schottiana*, observou-se que não houve a formação de calos, mas sim uma grande emissão de raízes, mostrando que para esta espécie provavelmente o balanço hormonal favoreça a emissão de raízes adventícias (Frassetto, 2007).

Raízes adventícias formadas em estacas podem ter origem no calo que se instala na base do corte. A cicatrização e a formação de calo ocorrem em superfícies seccionadas de raízes. Subsequentemente, parte das raízes adventícias forma-se nos tecidos não lesados situados abaixo da superfície ferida, e outra parte, das derivadas do calo (Bastos, 2006). Zuffellato-ribas (2005) observou que o fator que proporciona a facilidade de enraizamento de *Odontonema strictum* foi o reduzido crescimento de tecidos mecânicos na região periférica do cilindro central das estacas caulinares.

O fácil enraizamento encontrado nas estacas herbáceas de *C. sylvestris* está associado pela presença de tecidos que apresentam, na sua maioria, parede celular primária e não lignificada, com isso as raízes adventícias não encontram barreiras estruturais para o seu desenvolvimento, o que pode explicar em parte a facilidade de enraizamento desta espécie, as raízes adventícias da *C. sylvestris*,

como pode ser observado, não encontram barreiras estruturais para o seu desenvolvimento pois apresentam na sua maioria crescimento primário e paredes celulares não lignificadas, sendo seu fácil enraizamento relacionado a sua estrutura anatômica (Hartmann *et al.*, 2002).

## 5 CONCLUSÕES

Nas condições em que os experimentos foram realizados pode-se concluir que:

- A produção sazonal do óleo essencial de *C. sylvestris* diferencia entre as estações do ano, sendo o seu maior rendimento na primavera e no verão com temperatura média de 23,25 °C;
- Estacas herbacias de *C. sylvestris* provenientes de brotações do ano de plantas adultas não apresentam barreiras físicas à formação das raízes apresentaram enraizamento completo com 45 dias.
- As raízes adventícias de *C. sylvestris* são formadas tanto por células do calo quanto por células do câmbio.
- O extrato aquoso de *C. sylvestris* não é capaz de inibir o crescimento micelial de *Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola* em in vitro nas concentrações de 80 e 100%.
- Óleo essencial de *C. sylvestris* é capaz de inibir significativamente o crescimento micelial de *Botrytis* sp, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina* e *Alternaria brassicicola* in vitro na concentração de 2,5%.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *Casearia sylvestris* tem um grande potencial para a exploração econômica, tanto pelo aspecto fitoterápico, pela utilização do seu óleo essencial e pelo seu valor na recuperação de áreas degradadas. É uma planta que apresenta-se adaptada a todas as regiões do estado o que podendo ocorrer interferência de varias fatores sobre a composição e produção do seu óleo essencial, nesse contexto é necessário que se façam pesquisas relacionadas a composição e produção do óleo com um número maior de acessos por população afim de identificar outras variações no conteúdo do óleo essencial.

Quantos os estudos realizados com extrato de *C. sylvestris* obeservou-se que há necessidade de dar continuidade, analisandoà concentração do extrato, diferentes metodologias para o preparo, bem como utilizar folhas em estações do ano distintas.

Já a utilização do óleo essencial se mostrou um método promissor, no entanto, ainda é preciso realizar métodos *in vivo* utilizando as diferentes concentrações do óleo essencial no tratamento de sementes afetadas pelos fungos testados bem com o uso sobre as culturas atacadas.

Quanto o bom enraizamento observado nas estacas herbacias de *C. sylvestris* ainda é preciso observar, se as mudas produzidas por propagação assexuada irão apresentar adaptabilidade a campo e bom desenvolvimento.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, W. R. Bioactive sesquiterpenes produced by fungi: are they useful for humans as well **Current Medicinal Chemistry**, Reino Unido, v. 8, n. 6, p. 583-606, 2001.

ALMEIDA, L. F. R.; DELACHIAVE, M. E. A.; MARQUES, M. O. M. Composição do óleo essencial de rubim (*Leonurus sibiricus* L. – Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 1, p. 35-38, 2005.

ALMEIDA, S. P. et al. **Cerrado**: Espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 468.

ALTAMURA, M. M. Root histogenesis in herbaceous and woody explants cultured in vitro. A critical review. **Agronomie**, Paris, v. 16, n. 10, p. 589-602, 1996.

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** 161: 105-121.

ARAUJO, J. P. C. et al. Alporquia em Lichia: épocas e concentrações de carboidratos solúveis em ramos. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 18., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: [s.n.], 2004. 1 CD-ROM.

ARRIGONI-BLANK, M. F. et al. Morphological, agronomical and pharmacological characterization of *Hyptis pectinata* (L.) Poit germplasm. **Revista Brasileira de Farmacologia**, João Pessoa, v. 15, n. 4, p. 298-303. 2005.

BACKES, D. **Efeitos do ácido indolilacético (aia) e cinetina (kin) no enraizamento de estacas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e *Casearia sylvestris* (Sw.)**. 2010. 56 f. Trabalho de conclusão (Graduação) – Ciências Biológicas Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2010.

BALBI-PEÑA, M. I. et al. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina – I. Avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 10-14, 2006.

BALZON, D. R. et al. Cadeia produtiva do chá-de-bugre (*Casearia sylvestris*) na região Metropolitana de Curitiba – Paraná. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 38, n. 4, p. 617-624, 2008.

BARTHLOTT, W.; LAUER, W.; PLACKE, A. Global distribution of species diversity in vascular plants: towards a world map of phytodiversity. **Archive for Scientific Geography**, Bonn, v. 50, n. 4, p. 317-327, 1996.

BASTOS, C. D. **Propagação de caramboleira por estacas caulinares e caracterização anatômica e histológica da formação de raízes adventícias**. 2006. 66 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Fitotecnia, Universidade de São Paula, Piracicaba, 2006.

BECKER, C. **Avaliação da atividade acaricida de óleos essenciais de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., em *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)**. 2008. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Ambiente e Desenvolvimento - Centro Universitário Univates, Lajeado, 2008.

BELLO, C. M.; MONTANHA, J. A.; SCHENKEL, E. P. Análise das bulas de medicamentos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 75-83, 2002.

BENINI, P. C. et al. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.

BENTO, T. S. **Atividade antifúngica de extrato de *Casearia sylvestris* Swartz e *Casearia decandra* Jacq e seus efeitos sobre o metabolismo enzimático de três espécies de basidiomicetos deterioradores de madeira**. 2013. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2013.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente: Jaguariúna, 2009. p. 187-208.

BETTS, T. J. Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. **Journal of Chromatography A, Amsterdam**, v. 936, n. 1-2, p. 33-46, 2001.

BORGES, K. et al. Avaliação do efeito antinociceptivo do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) de *Casearia sylvestris* em camundongos. In: JORNADA CATARINENSE DE PLANTAS MEDICINAIS, 1. 1998, Tubarão. **Resumos...** Tubarão: [s.n.], 1998.

BORGES, M. H. et al. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Los Angeles, v. 127, p. 21-30, 2000.

BRACK, P. et al. Levantamento preliminar de espécies frutíferas de árvores e arbustos nativos com uso atual ou potencial do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 2., SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE AGROECOLOGIA, 5., E SEMINÁRIO ESTADUAL SOBRE AGROECOLOGIA, 6., - AGROBIODIVERSIDADE BASE PARA



SOCIEDADES SUSTENTÁVEIS, 2004, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: [s.n.], 2004.

BRUM, R. B. C. S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos Fitopatogênicos**. 2012. 135 f. Dissertação (Mestrado) – Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2012.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. 594 p.

BUENO, M. A. S.; DINIZ, S. P. S. S. Rendimento e composição do óleo essencial de tomilho, *Thymus vulgaris* L., cultivado em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BODIESEL, 2, 2005, Varginha. **Anais...** Varginha: [s.n.], 2000.

CALIXTO, J. B. et al. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 2, p. 179-89, 2000.

CANTON, M; ONOFRE, S. B. Interferência de extratos *da Baccharis dracunculifolia* DC. Asteraceae, sobre a atividade de antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de farmacologia**, Curitiba, v. 20, n. 3, p. 3, 2010.

CARRERA GARCIA, M. V. S. La propagacion vegetativa en el genero Pinus. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 2, n. 7, p. 3-29, 1977.

CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 1, p. 24-30, 2006.

CARVALHO, P. E. R. **Cafezeiro-do-mato *Casearia sylvestris***. Embrapa: Colombo, PR, 2007. (Circular Técnica, 138).

CASTELLANI, D. et al. Produção de óleo essencial em canela (*Ocotea odorifera* Vell.) e guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz) em função da época de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 104-107, 2006.

CAVALLARI, M. M. **Variabilidade genética e química entre e dentro de populações de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) no Estado de São Paulo**. 2008. 127 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Genética, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2008.

CHASE, M. et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 141, p. 399-436, 2003.

CHWAN-ESTRADA, K. R.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 129-137, 2000.

- CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984. p. 514-4516. v. 3.
- COSTA, A. G. et al. Diferentes concentrações de ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de melaleuca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, 2007.
- COSTA, H.; VENTURA, J. A.; LOPES, U. P. Manejo integrado de doenças do morangueiro. **Horticultura Brasileira**, Viçosa, v. 29, n. 2, 2011.
- CROCHEMORE, M. L.; PIZA, S. M. T. Germinação e sanidade de sementes de nabo forrageiro conservadas em diferentes embalagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 677-680, 1994.
- CUNICO, M. M. et al. Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae: Um Teste *in vivo*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 77-82, 2003.
- DAVID, E. F. S.; MISCHAN, M. M.; BOARO, C. S. F. Desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. **Biotemas**, Florianópolis, v. 20, n. 2, p. 15-26, 2007.
- DHINGRA, O. D. Prejuízos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 139-145, 1985.
- DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Ed. UNESP, 1996. p. 230.
- DZINGIRAI, B. et al. Phenolic content and phospholipids peroxidation inhibition by methanolic extracts of two medicinal plants: *Elionurus muticus* and *Hypoxis hemerocallidea*. **African Journal of Biochemistry Research**, v. 1, n. 7, p. 137-41, 2007.
- EINSENBERG, D. M. et al. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997. **Journal of American Medical Association**, Chicago, v. 208, n. 18, p. 1569-1575, 1998.
- FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Ed. E Gráfica Universitaria, 1994.
- FAZIO, J. L. **Mentha piperita L. cultivada com variação de cálcio. Trocas gasosas e óleo essencial**. 2011. 44 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, 2011.
- FERREIRA, M. B. Plantas portadoras de substâncias medicamentosas, de uso popular, nos cerrados de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 61, p. 19-23, 1980.

FERREIRA, S. H. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998. p. 142.

FERREIRA, B. G. et al. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, n. 16, p. 11-16, 2001.

FERREIRA, P. M. P. **Determinação do potencial antitumoral de diterpenos isolados das folhas de *Casearia sylvestris* Swarts**. 2006. 116 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

FIOR, C. S. **Propagação e desenvolvimento de mudas de *Butia odorata* (Bard.Rodr.) Noblick & Lorenzi**. 2011. 186 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Fitotecnia – Horticultura e Silvicultura, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

FRASSETTO, E. G. **Enraizamento adventício de estacas de *Sebastiania schottiana* Müll. Arg.** 2007. 108 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Área de concentração em Silvicultura, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

GALLO, D. et al. **Manual de Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. p. 920.

GARCIA, R. A. et al. Antifungal activity of vegetable oils and extracts against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

GARCIA, R. A. et al. Evaluation in vitro of the use of the aqueous extract of mint in different concentrations on the growth micelial of *Penicillium* sp. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

GIULIETTI, A. M. et al. Biodiversity and conservation of plants in Brazil. **Conservation Biology**, Nova York, v. 19, n. 3, p. 632-639, 2005.

GOMES, A. T. et al. Identificação, variabilidade circadiana e estudo da metodologia de extração de *Casearia sylvestris* Sw. In: SIMPÓSIO DE PLANTA MEDICINAIS DO BRASIL, 17, 2002, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: [s.n.], 2002.

GONTIJO, T. C. A. et al. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 290-292, 2003.

GORDON, L. J. et al. Human modification of global water vapor flows from the land surface. **Proceedings of National Academy**, Washington, DC, v. 102, n. 21, p. 7612-7617, 2005.

GRAHAM, J. G. et al. Plants used against cancer - an extension of the work of Jonathan Hartwell. **Journal of Ethnopharmacology**, Philadelphia, v. 73, n. 3, p. 347-377, 2000.

GRIGOLETTI JUNIOR, A. C. G.; SANTOS, A. F. **Estratégias de manejo de doenças em viveiros florestais**. Colombo, Paraná: Embrapa-CNPQ, 2001. p. 6. (Circular Técnica, 47).

GUENTHER, E. The production of essential oils: methods for distillation on, effleurage, maceration and extraction with volatile solvents. In: \_\_\_\_\_ **The essential oils**. 2. ed. New York: [s.n.], 1972. v. 1.

GÜNTZEL, A. R. C. **Avaliação das atividades farmacológicas de Extratos de Casearia sylvestris Sw**. 2008. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento) - Centro Universitário UNIVATES, Rio Grande do Sul, Lajeado, 2008.

HAISSIG, B. E. Metabolism during adventitious root primordium initiation and development. **New Zeland Journal of Forest Science**, v. 4, p. 324-337, 1974.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T. **Plant Propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.

HARTMANN, H. T. et al. **Plant Propagation: principles and practices**. 7. ed. New York: Englewood Clippings/Prentice Hall, 2002. 880 p.

HECK, M. C. Legislação e controle na coleta de plantas medicinais. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU – MESA REDONDA, 2., 1996, Botucatu. **Anais...** Botucatu, UNESP, 2000. p. 17-21.

JACQUIN, N. J. **Enumeratio Systematica Plantarum Insulis Caribaeis**. [S.l.]: Zug, Inter-Documentation, 1967. 41 p.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998. p. 777.

KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2.

Kulchetscki, I.; QUAQUARELLI, C. A.; LIMA, P. R. A Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw.) e seu potencial como fitoterápico: um resultado prático de trabalho extensionista no distrito de Itaiacoca. **Revista Conexão**, Ponta Grossa, v. 2, n. 1, p. 16-22, 2007.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. How many species are there in Brazil? **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 619-624, 2005.

LIMA, I. O. et al. Atividade antifúngica e óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 197-201, 2006.

LIMA, D. M. et al. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais [online]**, Botucatu, v.13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LIRA JUNIOR, J. S. et al. **Pitangueira**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, 2007. p. 87.

LOPES, C. A.; AVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. p. 152.

LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C.; ARAÚJO, E. Mancha-marrom-de-alternaria: uma grave doença nos pomares de tangerina da Paraíba. **Tecnologia & Ciências Agropecuárias**, João Pessoa, v. 3, n. 3, p. 23-27, 2009.

LORENZETTI, E. R. et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de Morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. especial, p. 619-627, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 352 p. v. 1.

LOVELL, J.; WHITE, P. H. Anatomical changes during adventitious root formation. In: JACKSON, M. B. **New root formation in plants and cuttings**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1986. p. 111-140.

LUZ, S. F. B. et al. Parâmetros para o controle da qualidade de folhas de *Casearia sylvestris* SW. Guaçatonga. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v. 7-8, n. 1, p. 1-11, 1998.

MADUEÑO BOX, M. **Cultivo de plantas medicinales**. Madri: Labor, 1973. 490 p.

MAGALHÃES, F. H. L. et al. Desempenho de sementes de cenoura portadoras de espécies de *Alternaria* após o condicionamento fisiológico com adição de thiram. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 1007-1014, 2004.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.

MARQUETE, R.; VAZ, A. M. S. F. O gênero *Casearia* jacq. no estado do Rio de Janeiro (Brasil) – Flacourtiaceae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 4, p. 705-738, 2005.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: Editora UFV: Universidade Federal de Viçosa, 2000. p. 220.

MARTINS; F. T. et al. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.), sob condições de cultivo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1203-1209, 2006.

MATOS, F. J. A. **As plantas da farmácia viva**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, Ceará, 1997. p. 1. v. 1.

MORAIS L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, 2009.

MORITA, H. et al. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 39, n. 3, p. 693-697, 1991.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, et al. **Plantas medicinais: guia para profissional de saúde**. Londres: Editora Premier, 1996. p. 300.

ODALIA-RÍMOLI, et al. Biodiversidade, biotecnologia e conservação genética em desenvolvimento local. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 1, n. 1, p. 21-30, 2000.

OLIVEIRA, M. C. et al. Enraizamento de estacas para a produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria. Brasília: Embrapa, 2001. (Recomendação Técnica, 41).

OLIVEIRA, J. A. et al. Efeito dos substratos artificiais no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 505-508, 2002.

OLIVEIRA, R. A.; OLIVEIRA, F. F.; SACRAMENTO, C. K. Óleos essenciais: perspectivas para o agronegócio de especiarias na Bahia. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 8, n. 1, 2007.

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

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1993. p. 40.

PAVAN, S. **Métodos de amostragem para manejo sustentado de plantas medicinais de Mata Atlântica no Vale do Ribeira**. 1999. 195 f. Dissertação (Mestrado) - Ciência Ambiental, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

PEGLOW, K.; VELLOSO, C. Por que e como utilizar plantas medicinais. **Revista Agroecológica e desenvolvimento rural sustentável**, Porto Alegre, v. 3, n. 3, 2002.

PEREIRA, R. C. A. et al. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento in vitro de *Uncaria guianensis* (aublet) *Gmelin* *Rubiaceae* (unha-de-gato). **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 637-642, 2006.

PERES, N. A. R. I. Outbreaks of *Alternaria* brown spot of citrus in Brazil and Argentina. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 6, p. 750, 2003.

PICCAGLIA, R. et al. Agronomic factors affecting the yields and the essential oil composition of peppermint (*Mentha piperita* L.). **Acta Horticulturae**, Wagennigen, v. 344, p. 29-40, 1993.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, 7. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2007.

RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, 1999.

RIZZO, J. A.; MONTEIRO, M. S. R.; BITTENCOURT, C. Utilização de plantas medicinais em Goiânia. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 36, 1990, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 1990. v. 2, p. 691-707.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 180 p.

RODRIGUES, E. et al. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 123-127, 2006.

ROSAL, L. F. et al. Avaliação *in vitro* do uso do extrato aquoso de hortelã em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial do *Penicillium* sp. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 4, n. 2, 2009.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. UFSC, 2002. p. 333-364.

SANTOS, A. S. et al. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém, PA: Embrapa, 2004. (Comunicado Técnico, 99).

SANTOS, A. G. **Identificação dos princípios ativos antiulcerogênicos das folhas de *Casearia sylvestris*: contribuição para o desenvolvimento de um fitoterápico**. 174 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, 2008.

SANTOS, A. et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 436-441, 2009.

SANTOS, M. B. et al. Efeito inibitório *in vitro* de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Aspergillus niger* Tiegh. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais [online]**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 13-17, 2010.

SANTOS JUNIOR, A. J. et al. Enraizamento de estacas, crescimento e respostas anatômicas de mudas clonais de cacauero ao ácido indol-3-butírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [online], Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 1071-1082, 2008.

SCAVONE, O. et al. Guaçatonga (*Casearia sylvestris*): aspectos botânicos da planta, ensaio fitoquímico e propriedades cicatrizantes de folha. **Anais Farmacologia Química**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 73-82, 1979.

SCHIEFFER, M. C.; MING I. C.; ARAUJO, A. J. **Conservação de Recursos Genéticos de plantas Mediciniais**. Brasília-DF: Embrapa Semi-Arido, 1999.

SCHIEFFER, M. et al. **Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais**. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. In: Recursos Genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008.

SCHULTES, R. E.; RAFFAUF, R. F. **The healing forest: medicinal and toxic plants of northwest Amazonia**. Portland, Oregon: Dioscorides Press, 1990.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1-2, p. 129-137, 2000.

SCHWAN-ESTRADA K. R. F. Extratos vegetais e de cogumelos no controle de doenças de plantas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, 2009.

SERAFINI, L. A. et al. Óleos Essenciais – Extrações e Aplicações de Óleos Essenciais de Plantas Aromáticas e Mediciniais. **EDUCS**, Caxias do Sul, p. 55, 2002.

SIANI, A. C. et al. Óleos essenciais: potencial antiinflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Viçosa, v. 16, p. 38-43, 2000.

SILVA, F. A. et al. Estudos farmacológicos preliminares dos extratos da *Casearia sylvestris* Swartz. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 18, n. 1-2, p. 219-229, 1988.

SILVA, C. M. M.; MELO, I. S. Requisitos nutricionais para o fungo *Alternaria alternata*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 499-503, 1999.

SILVA, M. A. S. et al. Composição química e teor de óleo essencial de folhas de guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw). In: SIMPÓSIO DE PLANTA MEDICINAIS DO BRASIL, 17, 2002, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: [s.n.], 2002.

SILVA, M. A. S. **Variabilidade genética e fitoquímica de *Casearia sylvestris* Sw. em populações do Cerrado e Mata Atlântica do estado de São Paulo**. 2003. 127 f. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Agronomia - Área de Concentração em Horticultura, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2003.

SILVA, N. A. et al. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2006.



SILVA, S. L. et al. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n.1, p. 107-112, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. **Óleos Voláteis**. Farmacognosia da Planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p. 397-426.

SMART, D. R. et al. Dormant buds and adventitious root formation by *Vitis* and other woody plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 21, n. 4, p. 296-314, 2003.

SOUZA, E. L. et al. Inibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of moulds isolated from foods. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 245-250, 2005.

SOUZA, M. C. M. R. et al. Avaliação dos teores de alumínio encontrados em análise de solos do município de Ibiapina-CE. In: Workshop Internacional de Inovações Tecnológicas na irrigação, 2. & Simpósio Brasileiro sobre o uso Múltiplo da água, 1., 2008, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: [s.n.], 2008.

SPANDRE, P. **Produção de óleo essencial e propagação vegetativa de *Casearia sylvestris* Swartz**. 2010. 182 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Curitiba, 2010.

TAVARES, S. C. C. H. **Doenças fungicidas, bacterianas e por nematóide na videira no Vale de São Francisco e alternativas de controle**. Petrolina. PE: EMBRAPA, Semi-Árido, 2000. p. 67.

THOMAS, P.; SCHIEFELBEIN, J. Cloning and characterization of an actin depolymerizing factor gene from grape (*Vitis vinifera* L.) expressed during rooting in stem cuttings. **Plant Science**, London, v. 162, n. 2, p. 283-288, 2002. TIMMER, L. W. Alternaria diseases of citrus-Novel pathosystems. **PhytopatholMediterr**, v. 42, p. 99-112, 2003.

TININIS, A. G. et al. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Casearia sylvestris* SW. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p.132-136, 2006.

TÖFOLI, J. G.; Domingues, R. J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. **Biológico**, São Paulo, v. 66, n. 1/2, p. 23-33, 2004. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2006\\_3/alternarioses/Index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/alternarioses/Index.htm)>. Acesso em: 18 dez. 2013.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Sintoma, etiologia e manejo da queima das folhas (*Alternaria dauci*; *Cercospora carotae*) na cultura da cenoura. **Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 47-50, 2010.

TÖFOLI, J. G. et al. *Botrytis* sp. em espécies hortícolas: hospedeiros, sintomas e manejo. **Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 11-20, 2011.

TÖFOLI, J. G. et al. Doenças fúngicas da oliveira: sintomas, etiologia e manejo. **Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 53-61, 2013.

TORRES, R. S.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Casearia* Jacquin (Flacourtiaceae) do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 9, p. 239–258, 1986.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCPT, EMBRAPA, CNPH, 1990. 433 p.

UNANDER, D. W.; BLUMBERG, B. S. *In vitro* activity of *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) species against the DNA polymerase of hepatitis virus: effects of growing environment and inter- and intra-specific differences. **Economic Botany**, New York, v. 45, n. 2, p. 225-242, 1990.

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

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas Medicinais: Cura Segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VENDRAMIM, J. D.; THOMAZINI, A. P. B. W. Traça *Tuta absoluta* (Meyrick) em cultivares de tomateiro tratadas com extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 607-611, 2001.

VENTUROSOS, L. R. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa phytopathol**, [online]., Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VIEIRA, R. E. et al. **Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas: resultados da primeira reunião técnica**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: Ibrama, Brasília, 2002. p. 184.

VILELA, E. F. Produtos Naturais no Manejo de Pragas. In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1, 1990, Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna: [s.n.], 1990. p. 15-18.

WENDLING, I. et al. Efeito do regulador do crescimento AIB na propagação de clones de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 187-192, 2000.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. et al. Enraizamento e morfo-anatomia de estacas caulinares de *Odontonema strictum* Kuntze (Acanthaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 56-61, 2005.

## 8 APÊNDICES

APÊNDICE 1. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no outono na Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	lk calc	lk Lit	Plantas				
			Out 1	Out 2	Out 3	Out 4	Out 5
δ-elemeno	1338	1339	4,99	15,34	3,29	0,45	12,62
Ciclosativeno	1364	1371	tr	tr	tr	tr	tr
α-copaeno	1375	1376	tr	tr	0,20	0,09	tr
β-elemeno	1392	1391	7,98	2,12	7,75	75,09	3,24
α-gurjuneno	1410	1409	nc	tr	nc	0,24	tr
trans-cariofileno	1420	1419	0,82	11,56	2,19	1,60	20,58
β-gurjuneno	1429	1432	1,22	0,42	1,35	0,25	0,63
γ-elemeno	1439	1434	43,08	tr	45,94	nc	tr
Aromadendreno	1439	1439	0,69	1,28	0,22	0,04	1,58
α-humuleno	1454	1454	0,45	2,63	0,83	0,15	2,66
allo-aromadendreno	1461	1461	0,22	0,50	0,35	tr	0,46
γ-gurjuneno	1475	1477	0,13	tr	tr	1,22	tr
γ-muuroleno	1475	1479	0,24	tr	0,55	nc	tr
germacreno D	1481	1485	3,71	6,67	15,83	0,62	3,86
β-selineno	1486	1490	0,44	tr	0,50	3,63	1,02
biciclogermacreno	1498	1494	14,88	37,71	1,76	6,93	36,33
germacreno A	1505	1503	0,15	0,38	0,27	0,73	1,04
E,E-α-farneseno	1508	1508	tr	0,30	tr	tr	0,26
γ-cadineno	1515	1513	0,10	0,26	tr	0,21	0,40
δ-cadineno	1524	1524	0,70	0,58	1,32	0,21	0,63
selina-3,7(11)-diene	1542	1545	1,49	nc	0,78	nc	nc
germacreno B	1559	1561	10,32	tr	10,50	tr	tr
E-nerolidol	1559	1564	tr	0,85	tr	tr	1,24
Palustrol	1567	1568	tr	1,07	tr	tr	0,78
Espatuleno	1577	1576	0,39	0,84	tr	tr	0,65
óxido de cariofileno	1584	1583	0,43	1,40	tr	0,06	2,82
Viridiflorol	1591	1592	0,37	2,56	tr	tr	2,09
cubeban-11-ol	1594	1595	tr	3,46	tr	tr	tr
Rosifoliol	1602	1600	tr	0,26	tr	tr	0,71
epi-α-muurolol	1642	1642	tr	tr	0,68	tr	0,33
β-eudesmol	1649	1650	1,96	tr	0,97	tr	tr

continuação APÊNDICE 1. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no outono na Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik calc	Ik Lit	Plantas				
			Out 1	Out 2	Out 3	Out 4	Out 5
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	0,64	tr	tr	1,79	0,39
(E,E)-farnesol	1722	1722	tr	tr	tr	tr	1,29
<b>Total Identificado</b>			<b>95,40</b>	<b>90,19</b>	<b>95,28</b>	<b>93,31</b>	<b>95,61</b>

APÊNDICE 2. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no inverno na Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	lk cal	lk lit	Plantas				
			Inv 1	Inv 2	Inv 3	Inv 4	Inv 5
$\delta$ -elemeno	1338	1339	4,53	14,29	3,33	10,33	0,40
Ciclosativeno	1364	1371	tr	tr	tr	Tr	tr
$\alpha$ -copaeno	1375	1376	0,12	tr	0,65	Tr	0,09
$\beta$ -elemeno	1392	1391	9,30	2,10	1,17	2,46	72,42
$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409	tr	tr	0,35	0,27	0,20
trans-cariofileno	1420	1419	1,06	15,58	53,83	27,05	1,67
$\beta$ -gurjuneno	1429	1432	1,33	0,49	1,39	0,85	0,25
$\gamma$ -elemeno	1439	1434	46,32	0,24	tr	Tr	tr
Aromadendreno	1439	1439	0,46	1,46	1,30	1,76	tr
$\alpha$ -humuleno	1454	1454	0,57	2,09	4,95	3,06	tr
E- $\beta$ -farneseno	1457	1456	nc	nc	nc	Nc	0,16
allo-aromadendreno	1461	1461	0,30	0,57	0,69	0,51	tr
$\beta$ -acoradieno	1467	1470	Nc	nc	nc	Nc	0,22
$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477	0,09	tr	0,28	Tr	1,40
$\gamma$ -muuroleno	1475	1479	0,28	tr	0,47	0,51	tr
germacreno D	1481	1485	3,72	7,47	7,32	4,38	0,57
$\beta$ -selineno	1486	1490	0,98	tr	0,32	1,46	4,17
Biciclogermacreno	1498	1494	13,98	35,16	11,26	33,56	7,50
germacreno A	1505	1503	0,19	0,44	0,41	1,98	0,78
E,E- $\alpha$ -farneseno	1508	1508	tr	0,26	1,13	0,27	tr
$\gamma$ -cadineno	1515	1513	0,13	0,28	0,48	0,35	0,07
cis-calameneno	1523	1521	nc	nc	nc	Nc	0,19
$\delta$ -cadineno	1524	1524	0,58	0,46	1,47	0,53	0,22
trans-calameneno	1532	1532	nc	nc	nc	Nc	tr
selina-3,7(11)-diene	1542	1545	1,37	nc	nc	Nc	nc
germacreno B	1559	1561	10,66	tr	tr	Tr	tr
E-nerolidol	1559	1564	tr	0,82	tr	0,77	tr
Palustrol	1567	1568	tr	1,02	tr	0,49	tr
Espatuleno	1577	1576	tr	1,21	tr	0,54	tr
óxido de cariofileno	1584	1583	0,07	1,29	0,84	1,77	tr
Viridiflorol	1591	1592	tr	2,44	0,66	1,30	tr
cubeban-11-ol	1594	1595	tr	2,84	tr	Tr	tr
Rosifoliol	1602	1600	tr	tr	tr	0,40	tr
Ledol	1602	1602	tr	tr	tr	Tr	tr
epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642	tr	tr	0,33	Tr	tr
$\beta$ -eudesmol	1649	1650	tr	tr	tr	Tr	tr
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	tr	tr	0,37	0,24	2,33
Bulnesol	1666	1667	tr	2,04	tr	Tr	tr
(E,E)-farnesol	1722	1722	tr	tr	1,64	1,13	tr
<b>Total Identificado</b>			<b>96,04</b>	<b>92,55</b>	<b>94,64</b>	<b>95,97</b>	<b>92,64</b>

APÊNDICE 3. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos na primavera na Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	lk cal	lk lit	Plantas				
			Prim 1	Prim 2	Prim 3	Prim 4	Prim 5
δ-elemeno	1338	1339	0,74	14,03	12,01	9,93	0,30
Ciclosativeno	1364	1371	tr	tr	tr	Tr	0,05
α-copaeno	1375	1376	tr	0,22	0,59	0,43	0,09
β-elemeno	1392	1391	14,85	2,12	2,15	2,38	76,95
α-gurjuneno	1410	1409	tr	tr	tr	Tr	0,24
trans-cariofileno	1420	1419	1,36	13,22	8,76	25,48	1,83
β-gurjuneno	1429	1432	1,21	0,45	1,27	0,79	0,32
γ-elemeno	1439	1434	41,55	tr	0,16	Tr	tr
Aromadendreno	1439	1439	tr	0,99	0,58	1,28	0,04
α-humuleno	1454	1454	0,88	1,93	1,35	5,56	0,16
allo-aromadendreno	1461	1461	tr	0,48	0,78	0,40	tr
γ-gurjuneno	1475	1477	tr	tr	tr	Tr	tr
γ-muuroloeno	1475	1479	tr	tr	0,59	0,37	0,22
germacreno D	1481	1485	1,11	8,07	30,06	4,06	0,62
β-selineno	1486	1490	1,65	tr	tr	1,20	4,17
Biciclogermacreno	1498	1494	5,37	33,60	27,71	30,07	7,06
germacreno A	1505	1503	tr	0,28	0,23	1,27	0,77
γ-cadineno	1515	1513	tr	0,26	0,43	0,39	0,17
δ-cadineno	1524	1524	0,49	0,44	0,99	1,47	0,20
selina-3,7(11)-diene	1542	1545	1,27	nc	nc	Nc	nc
germacreno B	1559	1561	9,67	1,06	0,19	0,98	tr
E-nerolidol	1559	1564	tr	tr	tr	Tr	tr
Palustrol	1567	1568	tr	1,44	0,16	0,87	tr
Espatuleno	1577	1576	4,02	1,62	0,89	1,11	0,04
óxido de cariofileno	1584	1583	tr	1,75	0,77	3,08	tr
Viridiflorol	1591	1592	tr	3,42	0,47	2,53	tr
cubeban-11-ol	1594	1595	tr	2,97	tr	Tr	tr
Rosifoliol	1602	1600	tr	0,27	tr	0,48	tr
epi-α-muurolol	1642	1642	tr	tr	0,60	0,46	tr
β-eudesmol	1649	1650	1,23	tr	tr	Tr	tr
α-cadinol	1654	1654	0,5	tr	0,63	0,58	tr
Bulnesol	1666	1667	tr	1,91	tr	Tr	tr
(E,E)-farnesol	1722	1722	tr	tr	tr	0,69	tr
Total Identificado			85,90	90,53	91,37	95,86	93,23

APÊNDICE 4. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no verão na Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas				
			Ver 1	Ver2	Ver3	Ver 4	Ver 5
$\delta$ -elemeno	1338	1339	5,01	14,49	3,17	11,23	0,38
Ciclosativeno	1364	1371	tr	tr	tr	Tr	tr
$\alpha$ -copaeno	1375	1376	tr	tr	tr	Tr	0,10
$\beta$ -elemeno	1392	1391	7,85	1,95	7,75	2,51	74,03
$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409	tr	tr	nc	0,27	0,17
trans-cariofileno	1420	1419	0,71	8,90	2,00	18,76	1,50
$\beta$ -gurjuneno	1429	1432	1,25	0,34	1,37	0,54	0,24
$\gamma$ -elemeno	1439	1434	43,38	tr	46,74	Tr	nc
Aromadendreno	1439	1439	0,39	1,04	0,20	1,73	tr
$\alpha$ -humuleno	1454	1454	0,44	1,25	0,76	2,45	tr
<i>E</i> - $\beta$ -farneseno	1457	1456	mc	nc	nc	Nc	0,14
allo-aromadendreno	1461	1461	tr	0,32	0,31	0,49	tr
$\beta$ -acoradieno	1467	1470	nc	nc	nc	Nc	0,10
$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477	tr	tr	tr	Tr	1,29
$\gamma$ -muuroleno	1475	1479	0,26	tr	0,53	0,42	tr
germacreno D	1481	1485	3,99	5,96	15,38	3,72	0,53
$\beta$ -selineno	1486	1490	0,71	tr	0,49	0,96	3,53
Biciclogermacreno	1498	1494	14,31	35,88	2,29	34,18	6,60
germacreno A	1505	1503	tr	tr	0,31	0,97	0,70
<i>E,E</i> - $\alpha$ -farneseno	1508	1508	tr	0,23		Tr	tr
$\gamma$ -cadineno	1515	1513	tr	0,21	tr	0,32	0,12
cis-calameneno	1523	1521	nc	nc	nc	Nc	0,26
$\delta$ -cadineno	1524	1524	0,51	0,36	1,14	0,71	0,17
trans-calameneno	1532	1532	nc	nc	nc	Nc	tr
selina-3,7(11)-diene	1542	1545	0,70	nc	0,77	Nc	tr
germacreno B	1559	1561	10,54	0,82	10,82	Tr	tr
<i>E</i> -nerolidol	1559	1564	tr	tr	tr	1,50	tr
Palustrol	1567	1568	0,24	1,51	tr	1,33	tr
Espatuleno	1577	1576	0,27	0,73	tr	0,75	tr
óxido de cariofileno	1584	1583	0,74	2,36	tr	4,51	tr
Viridiflorol	1591	1592	0,73	4,10	tr	3,66	tr
cubeban-11-ol	1594	1595	tr	5,02	tr	Tr	tr
Rosifoliol	1602	1600	0,23	0,51	tr	1,18	tr
Ledol	1602	1602	tr	tr	tr	Tr	tr
epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642	tr	tr	tr	0,44	tr
$\beta$ -eudesmol	1649	1650	3,07	0,36	1,39	Tr	tr
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	1,00	tr	tr	0,59	2,78
Bulnesol	1666	1667	tr	4,73	tr	Tr	tr
( <i>E,E</i> )-farnesol	1722	1722	tr	tr	tr	2,29	tr
<b>Total Identificado</b>			<b>96,33</b>	<b>91,07</b>	<b>95,42</b>	<b>95,51</b>	<b>92,64</b>

APÊNDICE 5. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no outono na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas							
			Out1	Out2	Out 3	Out 4	Out 5	Out 6	Out 7	Out 8
$\delta$ -elemeno	1338	1339	6,71	14,57	1,02	3,59	11,88	6,62	4,82	7,66
$\alpha$ -cubebeno	1349	1348	tr	tr	nc	0,31	tr	0,18	20,76	tr
Ciclosativeno	1364	1371	0,52	tr	tr	Tr	0,39	0,61	0,20	0,31
$\alpha$ -copaeno	1375	1376	5,93	0,44	tr	0,64	4,20	7,05	11,45	3,94
$\beta$ -cubebeno	1390	1388	nc	nc	nc	nc	nc	nc	5,40	nc
$\beta$ -elemeno	1392	1391	1,46	2,54	57,34	1,69	1,74	1,42		1,59
$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409	tr	0,44	tr	0,33	tr	tr	0,75	tr
trans-cariofileno	1420	1419	23,82	7,17	0,95	50,06	13,01	27,20	4,01	27,75
$\beta$ -gurjuneno	1429	1432	0,70	1,75	tr	1,05	0,43	0,78	0,79	0,53
Nd	1437		nc	nc	2,95	nc	nc	nc	nc	nc
$\gamma$ -elemeno	1439	1434	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Aromadendreno	1439	1439	1,08	2,32	tr	1,05	1,38	0,84	0,49	0,94
$\alpha$ -humuleno	1454	1454	3,02	1,08	tr	5,35	1,62	3,03	0,46	3,28
E- $\beta$ -farneseno	1457	1456	nc	nc	0,70	nc	nc	nc	nc	nc
allo-aromadendreno	1461	1461	1,72	0,93	tr	0,48	1,58	1,98	3,19	1,54
$\beta$ -acoradieno	1467	1470	nc	nc	2,67	nc	nc	nc	nc	nc
$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477	0,25	tr	1,57	0,34	0,28	0,22	1,23	0,25
$\gamma$ -muuroleno	1475	1479	0,45	0,72	tr	0,41	0,46	0,54	0,40	0,52
germacreno D	1481	1485	3,31	18,82	tr	7,98	2,10	2,93	7,51	7,67
$\beta$ -selineno	1486	1490	tr	tr	2,37	0,33	tr	tr	tr	tr
biciclogermacreno	1498	1494	17,69	34,51	5,45	11,51	29,96	17,18	11,88	19,76
germacreno A	1505	1503	tr	0,39	0,40	0,32	tr	tr	tr	0,30



continuação APÊNDICE 5. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no outono na Estação Experimental Agrônômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas							
			Out1	Out2	Out 3	Out 4	Out 5	Out 6	Out 7	Out 8
E,E- $\alpha$ -farneseno	1508	1508	tr	tr	tr	0,83	tr	tr	tr	tr
$\gamma$ -cadineno	1515	1513	2,05	0,91	0,14	0,46	0,43	1,74	2,33	1,13
cis-calameneno	1523	1521	nc	nc	0,72	nc	nc	nc	nc	nc
$\delta$ -cadineno	1524	1524	18,42	1,39	0,14	1,61	14,50	19,96	11,78	13,40
trans-calameneno	1532	1532	nc	nc	14,14	nc	nc	nc	nc	nc
selina-3,7(11)-dieno	1542	1545	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
germacreno B	1559	1561	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,21	tr
E-nerolidol	1559	1564	0,46	1,10	tr	0,61	tr	0,20	tr	0,36
Palustrol	1567	1568	0,26	0,56	tr	0,34	0,47	0,37	tr	0,36
Espatuleno	1577	1576	0,28	0,62	tr	tr	1,48	0,23	tr	0,44
óxido de cariofileno	1584	1583	1,10	1,86	0,17	1,18	1,96	0,99	0,82	1,38
Viridiflorol	1591	1592	0,74	1,54	0,39	0,86	1,22	0,86	0,71	0,95
Guaiol	1595	1598	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Rosifoliol	1602	1600	tr	0,36	tr	tr	0,34	tr	1,38	tr
Ledol	1602	1602	1,03	tr	tr	tr	0,70	0,89	tr	1,18
1-epi-cubenol	1628	1628	0,76	tr	tr	tr	0,47	0,27	1,76	0,56
epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642	0,46	0,41	0,12	0,34	1,15	tr	tr	1,25
Cubenol	1642	1642	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1,76	tr
$\beta$ -eudesmol	1649	1650	tr	tr	tr	tr	3,09	tr	tr	tr
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	tr	0,39	2,70	tr	1,79	tr	0,29	0,77
Bulnesol	1666	1667	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
(E,E)-farnesol	1722	1722	tr	tr	tr	3,55	tr	0,78	tr	tr
<b>Total Identificado</b>			<b>97,55</b>	<b>94,82</b>	<b>93,94</b>	<b>95,22</b>	<b>96,63</b>	<b>96,87</b>	<b>94,38</b>	<b>97,82</b>

APÊNDICE 6. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no inverno na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	lk cal	lk lit	Plantas								
			Inv 1	Inv 2	Inv 3	Inv 4	Inv 5	Inv 6	Inv 7	Inv 8	
$\alpha$ -pineno	931	939	0,63	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
$\beta$ -pineno	974	979	tr	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
$\delta$ -elemeno	1338	1339	7,67	13,09	12,29	7,65	3,46	3,61	6,73	4,68	
$\alpha$ -cubebeno	1349	1348	tr	tr	tr	0,20	25,02	24,89	tr	tr	
Ciclosativeno	1364	1371	0,47	tr	0,50	0,66	0,33	0,32	0,38	tr	
$\alpha$ -copaeno	1375	1376	4,84	0,43	5,30	7,32	13,78	13,65	4,99	0,81	
$\beta$ -cubebeno	1390	1388	nc	nc	nc	nc	5,53	5,77	nc	nc	
$\beta$ -elemeno	1392	1391	1,60	3,01	1,83	1,71	nc	nc	1,59	1,88	
$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409	tr	0,39	tr	tr	0,81	0,82	tr	tr	
trans-cariofileno	1420	1419	24,47	7,17	11,66	24,09	5,12	4,86	30,85	16,36	
$\beta$ -gurjuneno	1429	1432	0,78	1,70	0,46	0,86	0,97	0,93	0,59	2,31	
$\gamma$ -elemeno	1439	1434	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
Aromadendreno	1439	1439	1,78	2,54	1,54	1,16	0,60	0,63	1,14	0,60	
$\alpha$ -humuleno	1454	1454	2,98	1,14	1,19	2,63	0,55	0,55	3,47	2,48	
allo-aromadendreno	1461	1461	1,76	1,03	1,73	1,83	3,80	3,81	1,78	1,54	
$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477	0,39	0,33	0,26	0,20	0,92	0,89	tr	0,27	
$\gamma$ -muuroleno	1475	1479	0,47	0,86	0,48	0,62	0,51	0,54	0,63	1,22	
germacreno D	1481	1485	2,63	18,01	1,97	2,65	6,78	7,17	7,29	37,48	
$\beta$ -selineno	1486	1490	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,74	
biciclogermacreno	1498	1494	20,90	32,97	31,57	20,36	9,68	9,99	18,13	16,99	
germacreno A	1505	1503	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,31	0,28	
E,E- $\alpha$ -farneseno	1508	1508	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,94	
$\gamma$ -cadineno	1515	1513	1,54	0,96	0,40	1,67	1,83	1,76	1,16	1,41	

continuação APÊNDICE 6. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no inverno na Estação Experimental Agrônômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	lk cal	lk lit	Plantas							
			Inv 1	Inv 2	Inv 3	Inv 4	Inv 5	Inv 6	Inv 7	Inv 8
δ-cadineno	1524	1524	15,47	1,85	16,42	18,00	12,02	11,99	12,91	2,64
germacreno B	1559	1561	0,85	0,50	0,21	tr	tr	tr	tr	tr
E-nerolidol	1559	1564	tr	0,93	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Palustrol	1567	1568	0,60	0,54	0,33	0,37	tr	tr	tr	tr
Espatuleno	1577	1576	0,49	1,47	2,14	0,57	0,33	0,31	0,91	0,38
óxido de cariofileno	1584	1583	2,16	1,61	1,59	1,00	0,44	0,39	1,17	0,69
Viridiflorol	1591	1592	1,44	1,38	0,84	0,88	0,37	0,33	0,59	0,36
Rosifoliol	1602	1600	0,32	tr	0,26	tr	tr	tr	tr	tr
Ledol	1602	1602	0,82	tr	0,38	0,42	0,70	0,59	0,69	tr
1-epi-cubenol	1628	1628	1,06	0,43	0,31	0,39	0,95	0,84	0,43	tr
Cubenol	1642	1642	tr	tr	tr	tr	0,93	0,80	tr	tr
epi-α-muurolo	1642	1642	0,55	0,38	0,70	tr	tr	tr	0,65	0,88
β-eudesmol	1649	1650	tr	tr	1,94	tr	tr	tr	tr	tr
α-cadinol	1654	1654	tr	tr	1,10	tr	tr	tr	0,29	0,85
(E,E)-farnesol	1722	1722	0,56	tr	tr	0,36	tr	tr	tr	tr
<b>Total Identificado</b>			<b>97,23</b>	<b>92,72</b>	<b>97,40</b>	<b>95,60</b>	<b>95,43</b>	<b>95,44</b>	<b>96,68</b>	<b>95,79</b>

APÊNDICE 7. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos na primavera na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas								
			Prim 1	Prim 2	Prim 3	Prim 4	Prim 5	Prim 6	Prim 7	Prim 8	Prim8b
δ-cadineno	931	939	0,90	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
δ-elemeno	1338	1339	6,22	9,76	7,98	3,80	12,08	7,05	3,61	3,73	4,70
-cubebeno	1349	1348	tr	tr	tr	tr	tr	0,16	20,61	10,52	tr
iclosativeno	1364	1371	0,55	tr	tr	0,13	0,55	0,72	tr	0,63	0,26
α-copaeno	1375	1376	5,68	tr	0,52	0,34	5,80	7,66	11,64	11,97	2,94
-cubebeno	1390	1388	nc	nc	nc	nc	nc	nc	4,48	3,06	tr
β-elemeno	1392	1391	tr	2,12	8,40	1,15	1,79	1,63	nc	tr	1,50
α-gurjuneno	1410	1409	0,34	0,58	0,38	0,32	tr	tr	0,76	0,39	tr
trans-cariofileno	1420	1419	22,69	6,09	19,34	53,21	11,38	29,90	3,91	29,28	18,35
-gurjuneno	1429	1432	0,73	1,04	1,04	1,23	0,45	0,85	0,72	0,81	0,61
γ-elemeno	1439	1434	tr	tr	0,51	tr	tr	0,19	tr	tr	tr
aromadendreno	1439	1439	1,19	1,38	1,09	1,00	0,90	0,62	0,49	0,81	0,43
α-humuleno	1454	1454	2,58	0,92	2,27	5,73	1,31	3,36	0,45	2,88	2,21
allo-aromadendreno	1461	1461	1,64	0,69	0,57	0,42	1,62	1,98	3,08	2,59	1,10
γ-gurjuneno	1475	1477	tr	tr	tr	0,15	tr	0,14	1,18	tr	tr
γ-muuroleno	1475	1479	0,43	0,35	0,58	0,28	0,47	0,51	0,41	0,63	0,42
germacreno D	1481	1485	2,86	18,55	13,42	7,85	2,01	2,80	6,80	5,86	9,38
β-selineno	1486	1490	tr	tr	tr	tr	tr	tr	nc	tr	tr
biciclogermacreno	1498	1494	17,19	25,73	20,84	10,89	29,71	17,83	10,11	9,76	11,97
germacreno A	1505	1503	tr	tr	tr	0,14	tr	tr	tr	tr	tr
γ-cadineno	1515	1513	1,76	0,61	0,56	0,40	0,46	1,69	2,19	1,16	1,52
δ-cadineno	1524	1524	16,39	1,54	2,26	0,99	15,86	17,03	12,64	7,50	8,07
germacreno B	1559	1561	0,95	2,12	0,97	0,72	tr	tr	tr	tr	0,55

continuação APÊNDICE 7. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos na primavera na Estação Experimental Agrônômica de Eldorado do Sul, 2012.UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias identificadas	lk cal	lk lit	Plantas								
			Prim 1	Prim 2	Prim 3	Prim 4	Prim 5	Prim 6	Prim 7	Prim 8	Prim8b
E-nerolidol	1559	1564	tr	tr	Tr	tr	0,20	0,47	tr	tr	0,24
palustrol	1567	1568	1,06	2,37	1,25	0,58	0,43	0,34	0,38	tr	0,29
espatulenol	1577	1576	1,03	0,82	Tr	tr	1,49	0,86	0,57	0,45	1,63
óxido de cariofileno	1584	1583	3,43	5,11	3,28	1,84	1,69	0,66	1,30	1,66	1,59
viridiflorol	1591	1592	3,23	7,81	4,03	1,66	1,23	0,59	1,34	tr	0,98
rosifoliol	1602	1600	0,55	0,97	0,73	0,45	0,27	tr	nc	tr	tr
ledol	1602	1602	1,93	0,61	0,39	tr	0,84	tr	2,22	tr	1,51
1-epi-cubenol	1628	1628	0,85	tr	0,46	0,24	0,33	0,28	2,63	tr	4,04
epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642	1,11	1,59	0,68	0,56	1,15	0,25	2,47	0,55	1,32
$\beta$ -eudesmol	1649	1650	tr	tr	Tr	tr	3,33	tr	nc	tr	
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	0,47	1,39	1,49	0,55	1,90	0,32	0,65	tr	6,45
(E,E)-farnesol	1722	1722	0,74	tr	1,25	4,00	tr	tr	nc	tr	
			nc	nc	Nc	nc	nc	nc	nc	tr	13,68
<b>Total Identificado</b>			<b>96,50</b>	<b>92,15</b>	<b>94,29</b>	<b>98,63</b>	<b>97,25</b>	<b>97,89</b>	<b>94,64</b>	<b>94,24</b>	<b>95,74</b>

APÊNDICE 8. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no verão na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre. RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas									
			Ver 1	Ver 2	Ver 3	Ver 4	Ver 5	Ver 6	Ver7	Ver 8	Ver 8b	
δ-elemeno	1338	1339	5,14	5,01	14,49	14,96	3,17	11,23	11,64	0,38	0,37	
Ciclosativeno	1364	1371	tr	Tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
α-copaeno	1375	1376	tr	Tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,10	0,10	
β-elemeno	1392	1391	7,75	7,85	1,95	2,00	7,75	2,51	2,44	74,03	74,40	
α-gurjuneno	1410	1409	tr	Tr	tr	tr	nc	0,27	0,31	0,17	0,19	
trans-cariofileno	1420	1419	0,72	0,71	8,90	9,21	2,00	18,76	20,72	1,50	1,50	
β-gurjuneno	1429	1432	1,27	1,25	0,34	0,36	1,37	0,54	0,73	0,24	0,27	
γ-elemeno	1439	1434	43,79	43,38	tr	tr	46,74	tr	tr	nc	nc	
Aromadendreno	1439	1439	0,41	0,39	1,04	1,12	0,20	1,73	1,88	tr	tr	
α-humuleno	1454	1454	0,45	0,44	1,25	1,34	0,76	2,45	2,52	tr	tr	
E-β-farneseno	1457	1456	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	0,14	0,15	
allo-aromadendreno	1461	1461	0,19	Tr	0,32	0,46	0,31	0,49	0,51	tr	tr	
β-acoradieno	1467	1470	nc	Tc	nc	nc	nc	nc	nc	0,10	0,21	
γ-gurjuneno	1475	1477	tr	Tr	tr	tr	tr	tr	tr	1,29	1,39	
γ-muuroleno	1475	1479	0,26	0,26	tr	tr	0,53	0,42	0,45	tr	tr	
germacreno D	1481	1485	3,98	3,99	5,96	6,04	15,38	3,72	3,95	0,53	0,49	
β-selineno	1486	1490	0,71	0,71	tr	tr	0,49	0,96	1,06	3,53	3,80	
biciclogermacreno	1498	1494	14,31	14,31	35,88	36,78	2,29	34,18	35,86	6,60	7,08	
germacreno A	1505	1503	tr	Tr	tr	tr	0,31	0,97	1,10	0,70	0,82	
E,E-α-farneseno	1508	1508	tr	Tr	0,23	0,29		tr	0,27	tr	Tr	
γ-cadineno	1515	1513	tr	Tr	0,21	0,22	tr	0,32	0,32	0,12	0,08	
cis-calameneno	1523	1521	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	0,26	0,29	

Continuação APÊNDICE 8. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no verão na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre. RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas									
			Ver 1	Ver 2	Ver 3	Ver 4	Ver 5	Ver 6	Ver 7	Ver 8	Ver 8b	
δ-cadineno	1524	1524	0,51	0,51	0,36	0,37	1,14	0,71	0,68	0,17	0,21	
trans-calameneno	1532	1532	tc	nc	nc	nc	nc	nc	nc	tr	tr	
selina-3,7(11)-dieno	1542	1545	0,69	0,70	nc	nc	0,77	Nc	nc	tr	tr	

APÊNDICE 9. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no outono na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Planta				
			Out 1	Out 2	Out 3	Out 4	Out 5
δ-elemeno	1338	1339	0,22	8,11	3,00	11,08	3,47
α-cubebeno	1349	1348	0,08	tr	tr	tr	0,20
Ciclosativeno	1364	1371	0,20	tr	tr	tr	0,55
α-copaeno	1375	1376	2,11	tr	1,29	3,27	0,18
β-cubebeno	1390	1388	nc	nc	nc	nc	nc
β-elemeno	1392	1391	1,73	9,04	1,59	5,59	0,68
α-gurjuneno	1410	1409	nc	13,79	tr	tr	tr
trans-cariofileno	1420	1419	15,47	15,27	14,89	11,58	4,10
β-gurjuneno	1429	1432	0,17	2,71	0,28	0,63	0,31
γ-elemeno	1439	1434	nc	tr	tr	tr	tr
Aromadendreno	1439	1439	0,04	0,93	0,21	1,76	0,37
α-humuleno	1454	1454	64,17	2,53	45,81	1,49	0,50
allo-aromadendreno	1461	1461	0,62	0,82	0,86	1,38	0,14
γ-gurjuneno	1475	1477	0,06	0,94	tr	tr	tr
γ-muuruleno	1475	1479	0,24	0,59	0,30	0,65	0,56
germacreno D	1481	1485	1,38	14,21	4,33	4,88	72,88
β-selineno	1486	1490	0,42	0,41	tr	0,36	
Biciclogermacreno	1498	1494	2,66	16,59	8,49	29,17	6,76
germacreno A	1505	1503	tr	tr	0,79	1,34	0,58
E,E-α-farneseno	1508	1508	tr	tr	2,19	tr	tr
γ-cadineno	1515	1513	0,27	1,67	0,73	1,09	0,12
δ-cadineno	1524	1524	6,16	1,36	4,30	10,46	0,86
selina-3,7(11)-dieno	1542	1545	nc	nc	nc	nc	nc
germacreno B	1559	1561	tr	0,64	0,22	tr	tr
E-nerolidol	1559	1564	tr	0,36	tr	tr	tr
Palustrol	1567	1568	tr	0,38	tr	0,34	tr
Espatuleno	1577	1576	tr	0,74	0,34	1,02	0,40
óxido de cariofileno	1584	1583	0,14	1,07	0,46	1,20	0,52
Viridiflorol	1591	1592	tr	0,80	0,32	0,84	0,25
cubeban-11-ol	1594	1595	tr	tr	tr	0,89	tr
Guaiol	1595	1598	tr	tr	tr	tr	tr
Rosifoliol	1602	1600	tr	0,52	tr	0,49	tr
Ledol	1602	1602	tr	tr	tr	tr	tr
1-epi-cubenol	1628	1628	0,26	tr	tr	tr	tr
epi-α-muurolol	1642	1642	0,72	tr	tr	tr	tr
Cubenol	1642	1642	tr	1,44	tr	0,37	tr
β-eudesmol	1649	1650	tr	tr	tr	2,40	tr
α-cadinol	1654	1654	0,54	1,46	tr	1,27	0,34
Bulnesol	1666	1667	tr	tr	tr	tr	tr
<b>Total Identificado</b>			<b>97,66</b>	<b>96,38</b>	<b>90,4</b>	<b>93,55</b>	<b>93,77</b>



APÊNDICE 10. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no Inverno na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas				
			Inv 1	Inv 2	Inv 3	Inv 4	Inv 5
$\delta$ -elemeno	1338	1339	0,15	6,92	6,80	2,39	8,34
$\alpha$ -cubebeno	1349	1348	0,09	tr	tr	0,42	Tr
Ciclosativeno	1364	1371	0,27	tr	tr	tr	0,28
$\alpha$ -copaeno	1375	1376	2,59	tr	tr	1,82	3,87
$\beta$ -elemeno	1392	1391	1,71	8,68	8,27	1,48	1,54
$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409	Nc	12,95	13,99	tr	Tr
trans-cariofileno	1420	1419	16,77	16,54	16,96	17,25	25,47
$\beta$ -gurjuneno	1429	1432	0,23	0,61	0,63	0,26	0,52
$\gamma$ -elemeno	1439	1434	Nc	tr	tr	tr	Tr
Aromadendreno	1439	1439	Nc	0,82	0,88	0,41	0,58
$\alpha$ -humuleno	1454	1454	64,97	2,07	2,63	44,58	3,42
allo-aromadendreno	1461	1461	0,68	0,83	0,89	0,98	1,53
$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477	0,05	0,89	0,92	tr	Tr
$\gamma$ -muuroleno	1475	1479	0,25	0,62	0,64	0,26	0,67
germacreno D	1481	1485	1,10	14,75	14,87	3,97	8,78
$\beta$ -selineno	1486	1490	0,42	0,39	0,37	tr	Tr
Biciclogermacreno	1498	1494	2,44	14,85	14,35	7,15	19,98
germacreno A	1505	1503	tr	tr	tr	1,00	0,36
E,E- $\alpha$ -farneseno	1508	1508	tr	tr	tr	2,63	Tr
$\gamma$ -cadineno	1515	1513	0,25	1,84	2,02	0,70	1,34
$\delta$ -cadineno	1524	1524	5,85	1,48	1,60	4,49	15,69
germacreno B	1559	1561	tr	0,66	0,63	tr	Tr
E-nerolidol	1559	1564	tr	tr	tr	tr	0,27
Palustrol	1567	1568	tr	tr	tr	tr	0,21
Espatulenol	1577	1576	tr	1,33	1,00	0,30	0,49
óxido de cariofileno	1584	1583	0,22	1,29	1,05	0,42	1,08
Viridiflorol	1591	1592	tr	0,81	0,66	0,18	0,65
Rosifoliol	1602	1600	tr	tr	tr	tr	Tr
Ledol	1602	1602	tr	0,48	0,38	tr	0,80
1-epi-cubenol	1628	1628	0,12	0,44	0,37	tr	0,51
Cubenol	1642	1642	0,37	1,54	1,41	tr	Tr
epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642	tr	tr	tr	tr	1,03
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	0,22	1,48	1,34	tr	0,61
<b>Total Identificado</b>			<b>98,75</b>	<b>92,27</b>	<b>92,66</b>	<b>90,69</b>	<b>98,02</b>

APÊNDICE 11. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos na primavera na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas				
			Prim 1	Prim 2	Prim 3	Prim 4	Prim 5
$\delta$ -elemeno	1338	1339	0,21	5,81	2,86	2,85	4,21
$\alpha$ -cubebeno	1349	1348	0,09	tr	tr	tr	0,20
Ciclosativeno	1364	1371	0,24	tr	tr	tr	0,64
$\alpha$ -copaeno	1375	1376	2,47	0,24	1,58	1,73	0,30
$\beta$ -elemeno	1392	1391	1,71	9,86	1,45	1,45	0,78
$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409	nc	14,18	tr	tr	Tr
trans-cariofileno	1420	1419	15,89	16,98	15,89	15,65	3,81
$\beta$ -gurjuneno	1429	1432	0,19	0,69	0,26	0,28	0,24
$\gamma$ -elemeno	1439	1434	nc	tr	tr	tr	Tr
Aromadendreno	1439	1439	tr	0,68	0,27	0,28	0,24
$\alpha$ -humuleno	1454	1454	63,64	2,45	40,80	38,77	0,26
allo-aromadendreno	1461	1461	0,69	0,87	0,88	0,95	0,68
$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477	0,05	0,96	tr	tr	Tr
$\gamma$ -muuroleno	1475	1479	0,22	0,52	0,26	0,28	Tr
germacreno D	1481	1485	1,35	16,66	5,41	5,69	72,88
$\beta$ -selineno	1486	1490	0,39	0,25	tr	tr	Tr
Biciclogermacreno	1498	1494	2,58	13,58	8,02	8,17	7,31
germacreno A	1505	1503	tr	tr	0,93	1,07	0,55
E,E- $\alpha$ -farneseno	1508	1508	tr	tr	2,59	2,96	Tr
$\gamma$ -cadineno	1515	1513	0,30	2,15	0,83	0,86	Tr
$\delta$ -cadineno	1524	1524	6,70	1,50	4,83	5,27	1,20
selina-3,7(11)-diene	1542	1545	nc	nc	nc	nc	Nc
germacreno B	1559	1561	tr	0,91	0,48	0,50	Tr
E-nerolidol	1559	1564	tr	tr	tr	tr	Tr
Palustrol	1567	1568	tr	tr	tr	tr	Tr
Espatuleno	1577	1576	tr	1,81	0,27	0,42	0,19
óxido de cariofileno	1584	1583	0,16	0,88	0,70	0,68	0,54
Viridiflorol	1591	1592	tr	0,38	0,50	0,52	0,43
cubeban-11-ol	1594	1595	tr	tr	tr	tr	Tr
Guaiol	1595	1598	tr	tr	tr	tr	Tr
Rosifoliol	1602	1600	tr	tr	tr	tr	Tr
Ledol	1602	1602	tr	tr	tr	tr	Tr
1-epi-cubenol	1628	1628	0,29	0,49	tr	tr	Tr
epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642	0,74	0,87	tr	tr	Tr
$\beta$ -eudesmol	1649	1650	tr	tr	tr	tr	Tr
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	0,55	0,48	0,32	0,29	0,54
<b>Total Identificado</b>			<b>98,46</b>	<b>93,20</b>	<b>89,13</b>	<b>88,67</b>	<b>95,00</b>

APÊNDICE 12. Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris* obtidos no verão na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul, 2012. UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

Substâncias Identificadas	Ik cal	Ik lit	Plantas				
			Ver 1	Ver 2	Ver 3	Ver 4	Ver 5
$\delta$ -elemeno	1338	1339	0,21	8,04	3,01	3,64	0,86
$\alpha$ -cubebeno	1349	1348	0,07	tr	0,31	0,23	tr
Ciclosativeno	1364	1371	0,22	tr	tr	0,65	tr
$\alpha$ -copaeno	1375	1376	2,35	tr	1,35	0,21	tr
$\beta$ -elemeno	1392	1391	1,75	8,74	1,66	0,64	8,21
$\alpha$ -gurjuneno	1410	1409	nc	12,52	tr	tr	tr
trans-cariofileno	1420	1419	15,65	15,19	15,41	4,26	2,26
$\beta$ -gurjuneno	1429	1432	0,17	0,54	0,27	0,20	1,51
$\gamma$ -elemeno	1439	1434	nc	tr	tr	tr	51,75
Aromadendreno	1439	1439	0,04	0,74	0,36	0,31	tr
$\alpha$ -humuleno	1454	1454	63,96	2,62	43,38	0,48	0,77
allo-aromadendreno	1461	1461	0,65	0,79	0,82	tr	0,15
$\gamma$ -gurjuneno	1475	1477	0,07	0,84	tr	tr	tr
$\gamma$ -muuroleno	1475	1479	0,24	0,52	0,30	0,43	0,31
germacreno D	1481	1485	1,54	14,79	5,29	74,22	3,27
$\beta$ -selineno	1486	1490	0,40	0,35	tr	tr	0,67
Biciclogermacreno	1498	1494	2,62	16,35	8,61	6,57	2,85
germacreno A	1505	1503	tr	tr	0,83	0,59	0,21
<i>E,E</i> - $\alpha$ -farneseno	1508	1508	tr	tr	2,29	tr	tr
$\gamma$ -cadineno	1515	1513	0,27	1,67	0,76	tr	tr
$\delta$ -cadineno	1524	1524	6,77	1,77	4,38	0,85	0,91
selina-3,7(11)-dieno	1542	1545	nc	nc	nc	nc	1,32
germacreno B	1559	1561	tr	0,60	tr	tr	11,96
<i>E</i> -nerolidol	1559	1564	tr	0,42	tr	tr	tr
Palustrol	1567	1568	tr	0,48	tr	tr	tr
Espatuleno	1577	1576	tr	0,55	0,31	0,17	tr
óxido de cariofileno	1584	1583	0,12	1,55	0,56	0,45	0,16
Viridiflorol	1591	1592	tr	1,16	0,42	0,30	tr
cubeban-11-ol	1594	1595	tr	tr	tr	tr	tr
Guaiol	1595	1598	tr	tr	tr	tr	1,35
Rosifoliol	1602	1600	tr	tr	tr	0,17	tr
Ledol	1602	1602	tr	0,68	0,43	tr	tr
1-epi-cubenol	1628	1628	tr	tr	tr	tr	tr
Cubenol	1642	1642	tr	2,02	tr	tr	tr
epi- $\alpha$ -muurolol	1642	1642	0,73		0,36	tr	tr
$\beta$ -eudesmol	1654	1654	tr	tr	tr	tr	2,92
$\alpha$ -cadinol	1654	1654	0,65	1,99	0,23	0,20	1,15
Bulnesol	1666	1667	tr	tr	tr	tr	1,62
( <i>E,E</i> )-farnesol	1722	1722	tr	tr	1,05	tr	tr
<b>Total Identificado</b>			<b>98,48</b>	<b>94,92</b>	<b>92,39</b>	<b>94,57</b>	<b>94,21</b>