

PESQUISA NA CADEIA DE SUPRIMENTOS DE PLANTAS AROMÁTICAS

**CLEBERTON CORREIA SANTOS
(ORGANIZADOR)**

**Atena**
Editora
Ano 2019

Cleberton Correia Santos
(Organizador)

Pesquisa na Cadeia de Suprimentos de Plantas Aromáticas

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Rafael Sandrini Filho
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof^a Dr^a Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie di Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof^a Dr^a Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof^a Dr^a Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^a Dr^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
P474	<p>Pesquisa na cadeia de suprimentos de plantas aromáticas [recurso eletrônico] / Organizador Cleberton Correia Santos. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-662-1 DOI 10.22533/at.ed.621913009</p> <p>1. Ervas – Uso terapêutico. 2. Matéria médica vegetal. 3. Plantas medicinais. I. Santos, Cleberton Correia.</p> <p style="text-align: right;">CDD 581.634</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

O livro “**Pesquisa na Cadeia de Suprimentos de Plantas Aromáticas**” de publicação da Atena Editora apresenta em seu primeiro volume 5 capítulos associados a inovações tecnológicas com uso de plantas aromáticas e medicinais.

As plantas medicinais e aromáticas são utilizadas na medicina popular desde os tempos passos por comunidades indígenas, rurais e urbanas visando à prevenção de enfermidades por meio do uso de chás, compressas, banhos, xaropes, entre outras formas de uso. Nos últimos anos, a busca por uma vida de qualidade tem reforçado o resgate da importância e uso das plantas medicinais, sejam elas exóticas e/ou nativas das diferentes fitofisionomias.

Atualmente foi liberada pelo Ministério da Saúde uma Relação de Plantas Medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), constituída de 71 espécies, contribuindo para implantação de hortos medicinais em postos de saúde, escolas públicas e privadas e instituições de ensino superior em diversos estados do Brasil.

Além disso, as plantas medicinais e aromáticas apresentam potencial tecnológico, pois podem ser inseridas na cadeia industrial e controle fitossanitário, especialmente pela ação que o óleo essencial que muitas espécies detêm. Neste volume, serão abordados trabalhos referentes à alelopatia, controle de plantas espontâneas, uso de óleo essencial em leveduras de panificação, métodos de extração de óleo essencial e sua composição química.

Os agradecimentos do Organizador e da Atena Editora aos estimados autores que empenharam-se em desenvolver os trabalhos de qualidade e consistência, visando potencializar o avanço de uso de fitoterápicos e em bioprocessos.

Espera-se com esse livro incentivar alunos de graduação e pós-graduação, bem como pesquisadores de instituições de ensino, pesquisa e extensão ao desenvolvimento estudos de associados ao cultivo, caracterização fitoquímica e comprovação científica das propriedades das plantas medicinais, incentivando o resgate cultural e fortalecimento da cadeia de plantas medicinais e aromáticas, almejando contribuir na qualidade de vida da sociedade e desenvolvimento sustentável.

Cleberton Correia Santos

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
POTENTIAL USE OF ESSENTIAL OILS IN BAKER'S YEAST	
Patrícia Regina Kitaka	
Marta Cristina Teixeira Duarte	
Glyn Mara Figueira	
Adilson Sartoratto	
Cláudia Steckelberg	
Camila Delarmelina	
Valéria M.Oliveira	
Maria da Graça S. Andrietta	
DOI 10.22533/at.ed.6219130091	
CAPÍTULO 2	13
FAMÍLIA LAMIACEAE: ATIVIDADE ALELOPÁTICA E POTENCIAL BIOHERBICIDA	
Cristine Bonacina	
Hélida Mara Magalhães	
Sílvia Graciele Hulse de Souza	
DOI 10.22533/at.ed.6219130092	
CAPÍTULO 3	25
PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS DO ESPÍRITO SANTO: O ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E FRUTOS DA ESPÉCIE <i>Schinus terebinthifolia</i> RADDI (AROEIRA VERMELHA)	
Maria Diana Cerqueira Sales	
Ricardo Machado Kuster	
Fabiana Gomes Ruas	
José Aires Ventura	
DOI 10.22533/at.ed.6219130093	
CAPÍTULO 4	37
CONTROLE PREVENTIVO DE CANCRO EUROPEU DAS POMÁCEAS EM MUDAS DE MACIEIRA	
Rodrigo Luis Boff	
Murilo César dos Santos	
DOI 10.22533/at.ed.6219130094	
CAPÍTULO 5	48
RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Eugenia uniflora</i> L. EM DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO	
Lidiane Diniz do Nascimento	
Márcia Moraes Cascaes	
Luís Henrique Araújo Oliveira	
Eloisa Helena de Aguiar Andrade	
DOI 10.22533/at.ed.6219130095	
SOBRE O ORGANIZADOR	59
ÍNDICE REMISSIVO	60

POTENTIAL USE OF ESSENTIAL OILS IN BAKER'S YEAST

Patrícia Regina Kitaka

Instituto de Biologia (IB), UNICAMP, São Paulo, Brazil

Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP, Paulínia - SP, Brasil. e-mail: patricia.kitaka@gmail.com

<http://lattes.cnpq.br/8916720523524200>

Marta Cristina Teixeira Duarte

Divisão de Microbiologia - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP Paulínia - SP, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/6011782448349535>

Glyn Mara Figueira

Divisão de Agrotecnologia - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP, Paulínia - SP, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/3641295718619015>

Adilson Sartoratto

Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP, Paulínia - SP, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/2938768700584296>

Cláudia Steckelberg

Divisão de Bioprocessos - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP, Paulínia - SP, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/5958009384445882>

Camila Delarmelina

Divisão de Microbiologia - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP, Paulínia - SP, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/2818924682073419>

Valéria M.Oliveira

Divisão de Recursos Microbianos - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP Paulínia - SP, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/3886687872358496>

Maria da Graça S. Andrietta

Divisão de Bioprocessos - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP Paulínia - SP, Brazil

<http://lattes.cnpq.br/3835309163911239>

RESUMO: Este capítulo fornece um panorama geral sobre as aplicações dos óleos essenciais sob uma perspectiva global. Esta visão mais abrangente tem como objetivo cobrir a extensa gama de aplicações industriais dos óleos essenciais, salientando sua importância em diversas áreas. Além disso, avanços e novos estudos são mostrados para estimular o pensamento criativo e encorajar o leitor a obter a informação e descobrir tendências que vão além das aplicações tradicionais.

Na primeira parte, definições, o contexto histórico e características dos óleos essenciais derivados de plantas são brevemente descritos. Os principais compostos com propriedades biológicas significativas e efeitos antimicrobianos são citados de forma resumida.

As partes subsequentes retratam o uso dos óleos essenciais no contexto industrial. Por esta razão estudos focados no tanto na aplicação tradicional como nas mais recentes perspectivas são apresentados.

Por fim, resultados oriundos de experimentos usando óleos essenciais e leveduras de panificação são demonstrados e discutidos. Estes ensaios tiveram o objetivo de avaliar o efeito dos óleos essenciais em sistemas que utilizam linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, comumente utilizada em diversos ramos industriais.

Este capítulo aborda as potenciais aplicações da pesquisa em óleos essenciais (OE) para vários segmentos industriais compreendendo desde o uso mais básico e convencional até as aplicações de vanguarda em processos que adotam leveduras de panificação como plataforma para processos fermentativos.

XUSO POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAS EM LEVEDURAS DE PANIFICAÇÃO

ABSTRACT: This chapter provides an overview of applications of essential oils (EOs) using a global perspective. This broad view aims to cover the extensive industrial applications of EOs, highlighting their importance in several fields. Recent advancements are highlighted to illustrate “out-of-box-thinking” and to encourage readers to acquire information regarding trends beyond traditional applications of EOs.

In the first section, definitions, historical contexts and characteristics of plant-derived EOs are briefly outlined. The compounds with significant biological properties and antimicrobial effects are summarized.

Subsequent sections describe the use of EOs in the industrial context. We present studies focused on both traditional applications and the latest perspectives

Finally, results from experiments using essential oils and baker’s yeast strains are discussed. These studies aimed to evaluate the effects of EOs in systems that use *Saccharomyces cerevisiae* strains, commonly used in numerous industries.

This chapter addresses the potential applications of EOs in industries ranging the most basic and conventional uses to the cutting edge applications in processes that adopt baker’s yeast as the platform for fermentation processes.

KEYWORDS: *Saccharomyces cerevisiae*; Baker’s yeast; Essential oils; Industrial applications

1 | ESSENTIAL OILS – HISTORY AND BRIEF OVERVIEW

Human use of plants dates back to antiquity. From the Neolithic Age, when humans began cultivating plants and extracting oils using stone tools, up to today, plants have played important roles as natural resources to satisfy needs related to health as well as

to food (MAZOYER; ROUDART; 2010; GURIB-FAKIM, 2006)

Several ancient historical records show that combinations of ointments and oils produced from various plant species were widely used worldwide (HALBERSTEIN, 2005; SENDRA, 2016). Evidences of medicinal and aromatic plants date back to 5000 years ago in India, China and Egypt as well as in Greece and Central Asia over almost 2500 years (ANG-LEE et al. 2001; JAMSHIDI-KIA F. et al. 2018).

Aromatic and medicinal plants were usually used as extracts or ointments. In fact, these plants are rich in specialized secondary metabolites, especially essential oils.

Essential oils are a mixture of several compounds, mainly terpenes, alcohols, acids, esters, epoxides, aldehydes, ketones, amines and sulfides. These phytochemicals are produced by plants in response to stress; indeed, plants possess a wide range of tools to combat pathogenic infections (THEIS; LERDAU, 2003).

These compounds are also known as *volatile* or *etheral oils*. The name '*essential oil*' is thought to have originated from the term coined in the 16th century by the Swiss medical reformer Paracelsus von Hohenheim; he referred to the effective component of a drug as *Quinta essentia* (GUENTHER, 1948).

Guenther (1948) described essential oils as aromatic oily liquids obtained from various parts of plants, including flowers, buds, seeds, leaves, twigs, bark, herbs, wood, fruits and roots. Despite the fact essential oils are not strictly-speaking oils, they are frequently poorly soluble in water, a characteristic of oils in general (DEANS; RITCHIE 1987; HAMMER et al.1999; BURT, 2004; SÁNCHEZ et al., 2010).

2 | APPLICATIONS OF ESSENTIAL OILS

Because essential oils contain volatile components with antimicrobial activities, they have been used for centuries for medicinal as well as for cosmetic purposes. Furthermore, they often have a specific odor and sometimes a distinctive and pleasant taste, the main reason why they are used commercially in significant amounts in the flavor and fragrance markets (BURT, 2004).

According to countless authors, including CONNER (1993), plant-derived essential oils have long served as flavoring agents in foods and beverages. Because of their versatility, including their antimicrobial properties, essential oils may potentially replace synthetic additives as natural agents for food preservation.

In recent decades, several studies have been conducted with natural products focusing on antimicrobial properties; this research has been stimulated by increasing signs of negative effects caused by consumption of synthetic preservatives.

More recently, the popularity of natural products has been increasing and has impacted various essential oil applications, as consumer perception towards food preservatives has changed simultaneous with increased interest in clean-label food products (DENGATE et al., 2002; PRIFTIS et al., 2007).

Because of the wide range of essential oils and their effects, they have received attention not only as from the flavoring and perfume industries in recent years, but also from other industrial segments. Consequently, many researchers have studied plant-derived essential oils and their applications.

Essential oils and their components have been extensively studied, not only for traditional use in perfumery, cosmetic and flavor industries, but also for alternative functions, including antibacterial (DEANS; RITCHIE,1987; OUSSALAH et al., 2007; FREIRES et al., 2015; SANTOS et al.,2017), anti-parasitic (GEORGE et al., 2009; COSTA et al., 2009), insecticidal (ESSAM, 2001; KIM et al., 2003), antifungal (FITZGERALD et al., 2003, KALEMBA;KLUNICKA, 2003;TSERENNADMID et al., 2011; FREIRES et al., 2015), and antioxidant, as well as growth and health promoters (BRENES; ROURA, 2010).

3 | NEWEST POTENTIAL APPLICATIONS OF ESSENTIAL OILS

In the last two decades, as a consequence of the advances in chromatography and chemical analysis, several studies have been undertaken to characterize the composition of essential oils. These studies have involved medicinal and aromatic plants from various parts of the world, including endemic plants that may provide a wide range of components in varying amounts and proportions (SARTORATTO et al.,2004; VIUDA-MARTOS et al. 2011; BALLESTER-COSTA et al., 2013; SHAROPOV et al., 2015; MARÍN et al., 2016).

According to Raut and Karuppayil (2014), several innovative applications using essential oils go beyond traditional uses. These authors mention studies of essential oils applied as anti-protozoans, anti-diabetics, anti-inflammatories, antioxidants, antivirals, and anti-mutagenics.

Given the fact that more than one million compounds have been discovered in natural sources, and that among them 50%–60% are produced by plants, plant-derived essential oils should be emphasized. Several compounds promise high potential to be explored by numerous industrial segments (BERDY, 2005).

Among the various segments in which essential oils can be applied, the food, animal husbandry and agriculture industries are worth highlighting.

Unquestionably, in the context of food industry, the main application of essential oils has been related to their use as flavorings as well as preservatives, because there has been a growing demand for their antifungal, antibacterial and antioxidant properties.

Essential oils should also be considered for food preservation because of several difficult challenges in terms of contamination and spoilage. One of these is related to substantial concern over multidrug-resistant microorganisms on the part of regulatory agencies. Furthermore consumer food preferences are moving away from synthetic additives and preservatives and there is an increasing demand for minimally processed foods and natural preservatives.

In short, essential oils are highly valued by the food industry because they are well-suited for use in organic foods, permitting the use of clean labels on foods. Nevertheless, the use of essential oils present limitations, because in some cases they cause sensory changes derived from their strong odors, flavors and colors, all of which may change the original characteristics of foods (KUORWEL et al. 2011).

Research on essential oils' biological activities has become increasingly crucial for the pursuit of natural and safe alternative preservatives and health promoters. In this regard, essential oils are used as feed additives for ruminants to alter ruminal metabolism so as to reduce methane and ammonia emissions (COBELLIS et al., 2016).

Another important segment of application of essential oils is related to their use as replacements for antibiotic growth promoters both in animal husbandry and some agricultural processes. In spite of their mode of action in animals, their role remains superficially understood and requires deeper investigation (PEREIRA et al., 2010; NEGI, 2012; COBELLIS et al., 2016; BENTO et al., 2013).

Despite the substantial number of studies of essential oils as potential antimicrobials and as food preservatives, very few reports show their application in processes that use *Saccharomyces cerevisiae*.

Saccharomyces cerevisiae is used to produce bread and other bakery products. It is also widely employed in several industrial segments as a platform for fermentation processes.

4 | BAKER'S YEAST - *Saccharomyces cerevisiae*

In the same way that plant-derived essential oils have shown remarkable applications since antiquity, yeasts have been widely reported in historical documents from several cultures throughout history (FLEET, 2006). Among yeasts, *Saccharomyces cerevisiae* has been one of the most important domesticated microorganisms.

This microorganism has been extensively used in several fermentation processes since antiquity because of its versatility and capacity to act on various substrates. Interestingly fermentation processes employing *S. cerevisiae* remain common and represent a significant component of modern industrial processes.

In the food industry, *S. cerevisiae* is a double-edge sword. On the one hand, it often appears as a contaminant (STRATFORD, 2006; TYAGI et al., 2014). By contrast, a number of strains of this microorganism are employed as baker's yeasts to produce bread and other bakery products. Furthermore, several strains are used in industrial fermentation processes to produce beer, wine, and bioethanol.

As mentioned above, there is a trend toward green consumerism, not only in the food industry. Essential oils have also recently emerged as possible sources of safe and natural antimicrobial agents.

Long-term selection and domestication of *Saccharomyces cerevisiae* has led

to selection and use of various strains with characteristics appropriate for distinct fermentation processes. Consequently, the effects of plant-derived essential oils on yeast strains used in various fermentation processes are fundamentally important for understanding its action and possible future applications.

The next section summarize some findings from our studies using essential oils in baker's yeast strains.

5 | EFFECT OF ESSENTIAL OILS IN BAKER'S YEAST *Saccharomyces cerevisiae* STRAINS

Our group studied the effect of 25 plant-derived essential oils on strains of *S. cerevisiae* from the bakery industry (Figure 1). We cataloged growth-inhibition profiles following exposure to essential oils at varying concentrations. All strains were isolated from different baker's yeasts: stronger baker's yeast, active dry baker's yeast, and sweet dough baker's yeast. All were distinguished by karyotyping using pulsed field gel electrophoresis.

The essential oils used were extracted from plants belonging to the Medicinal and Aromatic Plant Collection (CPMA) of Chemical, Biological and Agricultural Multidisciplinary Research Center (CPQBA) at University of Campinas (UNICAMP) in Brazil.

Essential Oils	YEAST STRAINS					
	DYS	BMD	FMD	IMD	FFF	IMS
	ADY	SDY		SY		
<i>Aloysia tryphylla</i>						
<i>Artemisia annua</i>						
<i>Varonia curassavica</i>						
<i>Cymbopogon winterianus</i>						
<i>Lippia sidoides</i>						
<i>Ocimum gratissimum</i>						
<i>Origanum vulgari</i>						
<i>Achyrocline satureioides</i>						
<i>Alpinia</i>						
<i>Cipó cruz-do-norte</i>						
<i>Cymbopogon citratus</i>						
<i>Cymbopogon martinii</i>						
<i>Cyperus articulatus</i>						
<i>Elyonurus muticus</i>						
<i>Chenopodium ambrosioides</i>						
<i>Eugenia uniflora</i>						
<i>Lippia alba</i>						
<i>Melaleuca alternifolia</i>						
<i>Mentha aquatica</i>						
<i>Mentha piperita</i>						
<i>Ocimum selloi</i>						
<i>Pimenta Dióica</i>						
<i>Schinus terebinthifolius</i>						
<i>Ruta graveolens</i>						
<i>Tagetes patula</i>						

Inhibitory Concentration of Essential Oils (mg/mL)

2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0,031	0,016	0,008	0,004	0,002	0,001
---	---	-----	------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Terms used considering commercial descripton:

ADY - Active Dry Baker's Yeast

SDY - Sweet Dough Baker's Yeast

SY - Strong Baker's Yeast

FIGURE 1 Effect of essential oils (EOs) on baker's yeast strains growth

The 25 plant-derived essential oils (Figure 1) were analyzed using gas chromatography – mass spectral analysis (GC-MS) (ADAMS, 2007). Oil components were identified by comparison of mass spectra and retention indices with spectral library and literature. A different activity profile of essential oils in the face of baker's yeast strains was found. Among them, two groups can be highlighted: (I) Essential oils with severe effects on baker's yeast and (II) Essential oils that had no effect on baker's yeast. In the first group, two essential oils should be mentioned: *Elyonurus muticus* and *Chenopodium ambrosioides*. In the second group, three essential oils deserve to be highlighted: *Alpinia*; *Achyrocline satureioides*; and *Varronia curassavica*. We will discuss *A. satureioides*; *E. muticus* and *V. curassavica* in more detail.

5.1 *Elyonurus muticus*

The genus *Elyonurus* Humb.etBompl ex. Willd (Gramineae) is common in subtropical regions of South America, Africa and Australia. In Brazil *E. muticus* is native to the Pantanal biome and is popularly called "Capim-Carona." This plant has been studied for its negative effects in animal husbandry (SANTOS et al., 2005).

Similar to results shown in Figure 1, in which this essential oil presented one of the most severe effects on all *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from baker's yeast, studies have demonstrated strong antimicrobial inhibitory effects of this oil in yeasts of the *Candida* spp. (SABINI et al., 2006)

Although *E. muticus* essential oil has been mentioned as a repellent (STEFANAZZI, et al., 2011) and antimicrobial for *Candida* species, there are no studies of its effect on *S. cerevisiae*. The main chemical compound found in *E. muticus* essential oil was citral, a mixture of two geometric isomers known as geranial and neral that represent 82% of their composition.

Given the fact that *S. cerevisiae* are model of eukaryotic cells, the severe effect of this oil should be considered when used for human applications due its possible toxicity and need to be deeply studied.

5.2 *Achyroclinesatureioides*

Achyroclinesatureioides (D.C.) Lam. (Asteraceae), known as “marcelahembra” (Uruguay and Argentina), “marcela do campo” or “macela” (in Brazil) is a medicinal plant native to southeastern South America and is distributed as well in Europe and Africa. This aromatic plant has been traditionally used as an infusion of the dried flowers and flowered stems by local populations for medicinal purposes (LORENZO et al., 2000).

In our study, the essential oil extracted from *A. stureioides* was found to be harmless for all baker's yeast strains evaluated. Several studies conducting chemical characterization of *A. satureioides* essential oils showed that α -pinene and caryophyllene were major components, consistent with our results (45% of α -pinene; 25% of caryophyllene and 13% of α -humulene). The data showed that there was no inhibitory action on any *S. cerevisiae* strains when the *A. satureioides* essential oil was present at all concentrations tested.

Other studies, including research conducted by Mota et al. (2011) demonstrated the antibacterial effect of this oil. For all these reasons, there is a potential of this essential oil to be studied in depth for fermentation systems that use baker's yeast.

5.3 *Varronia curassavica* (sin = *Cordia verbenaceae* DC.)

Varronia curassavica Jacq. (sin = *Cordia verbenaceae* DC.), Boraginaceae, popularly known as “erva-baleeira”, “catinga-de-barão”, “maria-preta” and “maria-milagrosa” occurs naturally from Central to South America. In Brazil, it occurs in the Atlantic Forest biome. This traditional medicinal plant has been used to treat several inflammatory disorders, including ulcers and arthritis (FEIJÓ et al., 2014).

As with the essential oil of *A. satureioides*, the *V. curassavica* essential oil was also shown to be harmless for all baker's yeast strains evaluated, at all concentrations tested. Likewise, chemical characterization studies of *V. curassavica* essential oil showed that α -pinene and caryophyllene were the major components (CARVALHO et

al., 2004). Our study supports these results (33% of α -pinene; 33% of caryophyllene and 7,5% of α -humulene) and demonstrates the absence of inhibitory effect of *V. curassavica* essential oil on all baker's yeast strains. As with *A. saturoioides*, there are many studies using *V. curassavica* essential oil, demonstrating an antibacterial effect (RODRIGUES et al., 2012); for this reason, this oil presents potential in systems that use baker's yeast.

CONCLUSION

In this chapter, we provided an overview of applications for essential oils.

Plant-derived essential oils offer a wide range of useful properties. A series of ongoing investigations are demonstrating various advantages with application of essential oils. Several authors have highlighted the reduction of genotoxicity (even after prolonged use), lower toxicity, and the ability to act on several targets as the main reasons for their beneficial characteristics. Furthermore, use in 'eco-friendly' products, associated with low costs of production, increases profitability of their use.

We highlighted traditional and new applications, as well as potential applications in systems that employ baker's yeast in fermentation processes.

Generally, the concept of essential oils as antimicrobials can be considered a traditional approach. Nevertheless, the use of essential oils in baker's yeast strains should be considered an innovative application, because there are no studies using both of them. Furthermore, *S. cerevisiae* strains strongly impact food and beverage production.

The effects of essential oils or their several components in fermentation processes need further exploration because a range of essential oils have been accepted by the European Commission. The United States Food and Drug Administration (FDA) has also classified these substances as generally recognized as safe (GRAS). Studies using essential oils in *Saccharomyces cerevisiae* strains may be applied as screening techniques for antimicrobials to be used in fermentation processes, because there is great potential for new molecules and phytochemical discoveries based on essential oils that are extracted and characterized from traditional and medicinal plants worldwide.

Considering our present knowledge and future perspectives, the use of essential oils on yeast strains is only beginning, and there is a long journey ahead.

REFERENCES

ADAMS, R. P. Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry 4th ed. Illinois Allured Publ. 2007 804p.

ANG-LEE, M.K.; MOSS, J.; YUAN, C.S. Herbal medicines and perioperative care. **JAMA**; 286(2):208-

BALLESTER-COSTA, C.; SENDRA, E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; VIUDA-MARTOS M. Chemical composition and *in vitro* antibacterial properties of essential oils of four thymus species from organic growth. **Ind. Crops Prod.**, 50:304–311. 2013.

BENTO, M.H.L.; OUWEHAND, A.C.; TIIHONEN, K.; LAHTINEN, S.; NURMINEN, P.; SAARINEN, M.T.; SCHULZE, H.; MYGIND, T.; FISCHER, J. Essential oils and their use in animal feeds for monogastric animals-effects on feed quality, gut microbiota, growth performance and food safety: A review. **Vet. Med.**, 58, 449–458. 2013.

BERDY J. Bioactive microbial metabolites.A personal view.**J. Antibiot.**; 58: 1–26. 2005.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Anim. Feed Sci. Technol.** 158, 1-4, 2010.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v.94,n.3, 223-253, 2004.

CARVALHO, J.R.P.M.; RODRIGUES, R.F.O.; SAWAYA, A.C.H.F.; MARQUES, M.O.M.; SHIMIZU, M.T. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenaceae* DC. **J.Ethnopharmacol.**, 95, 297-301, 2004.

COBELLIS, G.; TRABALZA-MARINUCCI, M.; YU, Z. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. **Sci. Total Environ.** 545–546, 556–568. 2016.

CONNER, D.E. **Naturally occurring compounds**. In *Antimicrobials in Foods*; Davidson, P. M., Branen, A. L., Eds.; Dekker: New York, 1993; 441-468.

COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.B.; SILVA, J.R.A.; NORONHA, H.S.M.; DUARTE, M.C. T.; AMARAL, A.C.F.; MACHADO, G. M. C. ; LEON, L. L. **Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae)**. *Química Nova* v. 32, 78-81, 2009.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal Food Microbiology**, 5, 165-180. 1987.

DENGATE, S.; RUBEN, A. Controlled trial of cumulative behavioural effects of a common bread preservative. **J. Paediatr. Child Health**, 38, 373-376. 2002.

ESSAM, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.** 130, 325-337, 2001.

FEIJÓ, E.V.R.da S.; OLIVEIRA, R.A.; COSTA, L. C. do B. Light effects *Varronia curassavica* essential oil yield by increasing trichomes frequency. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 24, 516-523, 2014.

FITZGERALD, D.J.; STARTFORD, M.; NARBAD, A. Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin. **Int. J. Food Microbiol.**, 86, 113-122, 2003.

FLEET, G. H. The commercial and community significance of yeasts in Food and Beverage Production in Querol A., Fleet G. (eds) *Yeasts in Food and Beverages*. Springer, Berlin, Heidelberg 2006.

FREIRES, I.A.; BUENO-SILVA, B.; GALVÃO, L.C.C.; DUARTE, M.C. T.; SARTORATTO, A.; FIGUEIRA, G.M.; ALENCAR, S.M.de ; ROSALEN, P. L. The Effect of Essential Oils and Bioactive Fractions on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* Biofilms: A Confocal Analysis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015.1-9, 2015.

GEORGE, D.R.; SMITH, J.; SHIEL, R.S.; SPARAGANO, O.A.E.; GUY, J.H. Mode of action and variability in efficacy of plant essential oils showing toxicity against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Vet. Parasitol.** 161, 276-282, 2009.

GUENTHER, E., **The essential Oils** D. Van Nostrand, New York. 1948.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday. **Molecular Aspect of Medicine** n.6, 1-93, 2006.

HALBERSTEIN, R. A. Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns **Ann. Epidemiol.** 15. 686-699, 2005.

HAMMER, K.A. CARSON, C.E. RILEY, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **J Appl. Microbiol.**, 86, 985-990, 1999.

JAMSHIDI-KIA F, LORIGOOINI Z, AMINI-KHOEI H. Medicinal plants: past history and future perspective. **J Herbmed Pharmacol.** 7(1):1-7. 2018.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. **Current Medicinal Chemistry**, 10, 813-829, 2003.

KIM, S.I.; ROH, J.Y.; KIM, D.H.; LEE, H.S.; AHN, Y.J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **J. Stored Prod. Res.** 39, 293-303, 2003.

KUORWEL, K.K.; CRAN, M.J.; SONNEVELD, K.; MILTZ, J.; BIGGER, S.W. Essential oils and their principal constituents as antimicrobial agents for synthetic packaging films. **J. Food. Sci.** 76, R164–R177. 2011.

LORENZO, D.; ATTI-SERAFIN, L.; SANTOS, A.C.; FRIZZO, C.D.; PAROUL, N.; PAZ, D.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. *Achyrocline satureioides* Essential Oils from Southern Brazil and Uruguay **Planta Medica** 66, 476-477, 2000.

MARÍN, I.; SAYAS-BARBERÁ, E.; VIUDA-MARTOS, M.; NAVARRO, C.; SENDRA, E. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from organic fennel, parsley, and lavender from Spain. **Foods**, 5, 18. 2016.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. **História das Agriculturas no mundo: do neolítico à crise contemporânea** 1933 [Tradução de Cláudia F. Falluh Balduino Ferreira]. São Paulo: Nead, Editora Unesp – 2010 586p. il

MOTA, F.M.; CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana in vitro de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. - Asteraceae (“macela”, “marcela”) sobre agentes bacterianos de interesse em alimentos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu, 13, 298-304. 2011.

NEGI, P.S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **Int. J. Food Microbiol.**, 156, 7–17. 2012.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S. SAUCIER, L.; LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* **Food Control**, 18, 414-420, 2007.

PEREIRA, R. A. N.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, VERA L. G.; GODOY, M. C. L.; SILVA, A. F. **Uso de Plantas Mediciniais na Terapêutica Animal**. Informe Agropecuário (Belo Horizonte), v. 31, p. 101-105, 2010.

- PRIFTIS, K.M.; PANAGIOTAKOS, D. B.; ANTHRACOPOULOS, M. B.; PAPADIMITRIOU, A.; NICOLAIDOU, P. Aims, methods and preliminary findings of the Physical Activity, Nutrition and Allergies in Children Examined in Athens (PANACEA) epidemiological study. **BMC Public Health**, 7:140, 1471-2458. 2007.
- RAUT, J.S.; KARUPPAYIL, S. M.A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, 62, 250–264, 2014.
- RODRIGUES.F.F.;OLIVEIRA, L.G.;RODRIGUES, F.F.;SARAIVA, M.E.;ALMEIDA, S.C.;CABRAL, M.E.;CAMPOS, A.R.;COSTA, J.G. **Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from Cordia verbenacea DC leaves** Pharmacognosy Res. 4(3):161-165, 2012.
- SABINI, L.I. Study of the cytotoxic and antifungal activity of the essential oil of *Elyonurus muticus* against *Candida* spp. **Molecular Medicinal Chemistry**, v.11, 31-3, 2006.
- SÁNCHEZ, E.; GARCÍA, S.; HEREDIA, N. Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of *Vibrio cholerae*. **Appl Environ. Microbiol.** 76, 6888-6894, 2010.
- SANTOS, A. R.; BENGHI, T.G.S.; NEPEL, A.; MARQUES, F.A.; LOBÃO, A. Q.; DUARTE, M. C. T.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J. E.; MAIA, B. H. L.N.S. Antiproliferative and Antibacterial Activities of Essential Oils from Four Species of Guatteria. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, 1-6, 2017.
- SANTOS, S.A.; CRISPIM, S.M.A.; FILHO, J.C.; POTT, A.; CARDOSO, E.L. **Substituição de Pastagem Nativa de Baixo Valor Nutritivo por Forrageiras de Melhor Qualidade no Pantanal**. EMBRAPA, Circular Técnica, nov, 2005.
- SARTORATTO, A.; MACHADO, A.L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V.L.G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, Brasil, v. 35, n.4, 275-280, 2004.
- SENDRA, E. Essential Oils in Foods: From Ancient Times to the 21st Century, **Foods**, 5:43, 1-3, 2016.
- SHAROPOV, F.; BRAUN, M.; GULMURODOV, I.; KHALIFAEV, D.; ISUPOV, S.; WINK, M. Antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of essential oils of selected aromatic plants from tajikistan. **Foods**. 4:645. 2015.
- STEFANAZZI, N. STADLER, T. FERRERO, A. Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored-grain pests *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Pest Manag. Sci.**, 67, 639-646. 2011.
- STRATFORD M. **Food and Beverage Spoilage Yeasts**. In: Querol A., Fleet G. (eds) Yeasts in Food and Beverages. Springer, Berlin, Heidelberg 2006.
- THEIS, N.; LERDAU, M. The Evolution of Function in Plant Secondary Metabolites. **International Journal of Plant Sciences** 164(S3):93-102, 2003.
- TYAGI, A. D.; GOTTARDI, D.; MALIK, A.; GUERZONI, M.E.; Chemical composition, in vitro anti-yeast activity and fruit juice preservation potential of lemon grass oil. **LWT-Food Science and Technology**, 57 (2), 731-737, 2014.
- TSERENNADMID, R.; TAKÓ, M.; GALGÓCZY, T.; PAPP, T.; PESTI, M.; VÁGVÖLGYI, C.; ALMÁSSY, K.; KRISCH, J., Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk **Int. J. Food Microbiol**, 144, 480-486, 2011.
- VIUDA-MARTOS, M.; RUIZ-NAVAJAS, Y.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; PEREZ-ALVAREZ, J. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. **Food Cont.** 19, 1130-1138, 2008.

FAMÍLIA LAMIACEAE: ATIVIDADE ALELOPÁTICA E POTENCIAL BIOHERBICIDA

Cristine Bonacina

Universidade Paranaense (UNIPAR), Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Umuarama, Paraná.

Hélida Mara Magalhães

Universidade Paranaense (UNIPAR), Departamento de Engenharia Agrônômica e Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Umuarama, Paraná.

Silvia Graciele Hulse de Souza

Universidade Paranaense (UNIPAR), Departamento de Engenharia Agrônômica e Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Umuarama, Paraná.

RESUMO: Brevemente neste capítulo iremos abordar e relatar os aspectos gerais sobre as pesquisas conduzidas nas espécies mais relevantes da Família Lamiaceae e seus efeitos aleloquímicos. O uso de extratos ou óleos essenciais dessa família de plantas para controle de ervas daninhas na agricultura mostrou ser promissor, uma vez seus efeitos alelopáticos foi comprovada.

PALAVRAS-CHAVE: Biocontrole, Bioensaio, Manjeriço, Plantas aromáticas

LAMIACEAE FAMILY: ALLELOPATHIC

ACTIVITY AND POTENTIAL BIOHERBICIDE

ABSTRACT: Briefly, in this chapter, we will discuss and report the general aspects of research conducted in the most important species on the Lamiaceae family and its allelochemicals effects. Extracts or essential oils use of this plant family to weed control in agriculture provider to be promising, since their allelopathic effects was proven.

KEYWORDS: Biocontrol, Bioassay, Basil, Aromatic plants

1 | INTRODUÇÃO

A ocorrência de plantas daninhas é uma das grandes problemáticas para o cultivo, pois devido a competição com outras plantas por elementos como água, luz e nutrientes faz com que a produtividade das culturas seja afetada ocasionando grandes perdas de produtividade (KAUR et al., 2018).

Como forma de tentar reduzir a presença de plantas daninhas na agricultura, o uso de produtos químicos de alta toxicidade tem sido empregado como os herbicidas industriais o que tem causado contaminação do ambiente, riscos à saúde humana e induzindo a resistência de insetos (BARTUCCA et al., 2018). Assim, têm-se procurado medidas sustentáveis que inibam

a atividade dessas plantas (BABALOLA, 2010).

A utilização de plantas aromáticas têm sido estudada como uma alternativa frente a utilização dos herbicidas, devido a atividade alelopática que estas apresentam em função de seus compostos químicos. Isso pode ser observado em vários estudos, em que resultados positivos têm sido apresentados frente a redução ou até mesmo a total inibição do crescimento de plantas bioindicadoras (BOIAGO et al., 2018; M'BAREK et al., 2018).

Atualmente, há uma tendência em busca de novos produtos vegetais naturais para o desenvolvimento de bioherbicidas. Várias plantas relatam possuir potencial alelopático, e esforços tem sido feito para aplicá-las no controle de ervas daninhas (NASRINE et al., 2014). Plantas medicinais têm sido amplamente estudadas na busca por compostos ativos naturais potenciais.

A alelopatia é um fenômeno de interações químicas entre as plantas, no qual os aleloquímicos são produtos químicos liberados pelas plantas para o meio ambiente via volatilização, exsudação das raízes, lixiviação e decomposição de plantas (SUWITCHAYANON et al., 2017). Os aleloquímicos podem representar uma influência nociva ou benéfica, uma vez que podem inibir ou estimular a germinação e o crescimento das espécies receptoras desses aleloquímicos (BALIČEVIĆ et al., 2016). O uso de plantas alelopáticas e medicinais tem sido sugerido como uma opção viável para o manejo alternativo de ervas daninhas sob uma agricultura sustentável (ALGANDABY & EL-DARIER, 2018).

2 | PRINCÍPIOS DE BIOENSAIOS

Para saber se uma planta possui um potencial alelopático, uma série de investigações deve ser realizada a fim de averiguar tal potencial (DUKE, 2015). O primeiro passo é explorar as características da composição química da plantas (OOTANI et al., 2013; CHOWDHARY et al., 2018). Na sequência é realizado um bioensaio que consiste da extração destes compostos, os quais são aplicados em sementes de plantas bioindicadoras (ALI et al., 2014; ARAFAT et al., 2015). O mais comum é que estes testes sejam realizados *in vitro* sobre condições controladas em germinadores, B.O.D ou câmaras de crescimento (MAGALHÃES et al., 2012).

O método de extração de compostos nas plantas geralmente é feito a partir da obtenção de um extrato ou por meio de óleos essenciais obtidos das folhas ou raízes. O extrato é mais fácil de ser obtido, pois geralmente o material vegetal é secado a temperatura ambiente e na ausência de luz (PUROHIT & PANDYA, 2013) e macerado (ALI et al., 2014). O ideal é que seja utilizado mais de um solvente com diferentes polaridades devido a natureza química dos compostos (MAGALHÃES et al., 2012; ALI et al., 2014). O óleo essencial é obtido por meio do aparelho clewenger, o material vegetal é triturado, alocado em um balão volumétrico e submetido à hidrodestilação. A

duração do processo se dá conforme a natureza química do vegetal (Fig. 1).



Figura 1. Filtragem de extrato de folhas e processo de hidrodestilação para obtenção de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L.

O passo seguinte é a implantação do bioensaio onde o óleo essencial ou o extrato são aplicados nas sementes de plantas bioindicadoras. As mais comuns são alface, tomate, cebola, dentre outras. Isso devido a sua sensibilidade em responder a ação dos compostos (MIRANDA et al., 2015a). No entanto, é comum observar nos ensaios a utilização de outros materiais como gramíneas, soja, feijão (SINGH & SINGH, 2009; PUROHIT & PANDYA, 2013; ISLAM & KATO-NOGUCHI, 2014) e sementes de plantas daninhas (ARAFAT et al., 2015; SILVA et al., 2015). Neste caso, tomar precauções sobre a condição de dormência, muito comum nestas espécies que poderia mascarar os resultados do bioensaio (BENECH-ARNOLD, 2017). O ideal é que se proceda um teste de germinação, tetrazólio e umidade para averiguar as condições de germinabilidade e viabilidade do lote de sementes antes da instalação do bioensaio.

Os procedimentos de instalação dos testes devem seguir metodologia comprovada. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento criou um comitê para a elaboração das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Que possui todas as informações necessárias para a condução de um teste como duração, número de sementes, substrato, temperatura, fotoperíodo, umidade e cálculos (Tabela 1). Internacionalmente a *International Seed Testing Association* - ISTA também criou regras para a elaboração de ensaios com sementes (ISTA, 2008).

Condições	Espécie bioindicadora		
	Alface	Tomate	Cebola
Duração (dias)	7	14	12
Número de sementes/ mínima	400	400	400

Substrato	sobre papel, areia, rolo de papel ou entre papel	sobre papel, areia ou entre papel	sobre papel, areia ou entre papel
Temperatura C °	20; 15	20-30	20; 15
Quantidade de água p/ substratos (mL)	2,5 x massa do substrato	2,5 x massa do substrato	2,0 -3,0 x massa do substrato

Tabela 1. Condições para teste de germinação em bioensaios segundo as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

3 | ALELOPATIA EM LAMIACEAE

3.1 *Ocimum sp.*

No gênero *Ocimum* se concentram espécies conhecidas como manjeriço e alfavaca (BERRY, 2019). Os relatos sobre o potencial alelopático para este gênero demonstraram perspectivas promissoras dos extratos ou óleos essenciais isto porque em baixas concentrações houve efeitos sobre a germinação e crescimento em várias plantas bioindicadoras (FANAIEI et al., 2013; PUROHIT & PANDYA, 2013; ISLAM & KATO-NOGUCHI, 2014; MIRANDA et al., 2015a).

Quando uma pesquisa visa investigar o potencial alelopático de uma planta deve-se decidir qual órgão vegetal será investigado, folhas, caules, raízes ou flores. Em grande parte dos estudos realizados com o gênero *Ocimum* as folhas foram as mais utilizadas (PUROHIT & PANDYA, 2013; ROSALDO et al., 2009; MIRANDA et al., 2015a). No entanto, alguns estudos como, por exemplo, em *Ocimum tenuiflorum* L. raízes e o caule foram utilizados para a formulação do extrato (ISLAM & KATO-NOGUCHI, 2014).

Uma questão também importante nos bioensaios é considerar o momento de coleta da planta (SMITHA & TRIPATHY, 2016). Isso porque os vegetais estão intimamente ligados com as condições de ambiente como clima, solo e fatores bióticos. Estas condições alteram muito a composição química da planta. Em espécies de *Ocimum* verificou-se que o teor de óleo essencial durante a monção pós-monção foi menor em comparação com a colheita em pré-monção em todas as espécies, independentemente das partes da planta (SMITHA & TRIPATHY, 2016).

Com relação ao uso de extratos ou do óleo essencial as pesquisas têm contemplado ambas as opções no momento da execução dos estudos (OOTANI et al., 2013; ALI et al., 2014). O uso de extratos permite que compostos oriundos de outras partes da células possam ser acessados, uma vez que o material vegetal é macerado. No óleo essencial a grande parte dos compostos é extraída das glândulas secretoras, como tricomas glandulares estas estruturas são especializadas na sintetização de compostos (ALI et al., 2015) e são muitos comuns em plantas da família Lamiaceae (OOTANI et al., 2013).

No preparo do extrato, a maioria dos trabalhos com *Ocimum* empregaram a água

como solvente (FANAIEI et al., 2013; PUROHIT & PANDYA, 2013) embora a água seja considerada polar pode não ser capaz de dissolver todos os compostos devido a sua polaridade ser menor quando comparado a outros solventes, por exemplo, metanol. Também deve ser ressaltado da possibilidade de compostos apolares atuarem nas respostas observadas nas plantas bioindicadoras (MAGALHÃES et al., 2012; ALI et al., 2014). Por isso, o ideal é que mais de um solvente seja testado quando for empregado o extrato. O cuidado deve apenas em assegurar que o solvente seja totalmente evaporado antes da distribuição das sementes devido a problemas de toxicidade mascarando o resultado do teste.

As consequências do uso de extrato ou óleo essencial das plantas medicinais nas sementes das bioindicadoras vão desde a redução da porcentagem de germinação ou efeitos na uniformidade do processo como danos ao comprimento e ganho de massa nas plântulas. Em *O. tenuiflorum* 30 mg mL⁻¹ de extrato foi suficiente por afetar a germinação e a uniformidade do processo avaliada por meio de índices como a velocidade de emergência e vigor das plântulas de alface, azevém, agrião, capim-arroz e alfafa (ISLAM & KATO-NOGUCHI, 2014). Em alguns casos o extrato pode não ser a melhor opção foi o caso verificado por Rosaldo et al. (2009) que observaram que o extrato aquoso não promoveu nenhum efeito sobre a germinação de sementes de alface, tomate e melissa. No entanto, o óleo essencial a 1% comprometeu o índice de velocidade de germinação.

No caso da germinação das sementes, o efeito pode ser não somente verificado no percentual final de sementes germinadas ou não, mas também como ressaltamos sobre o efeito da uniformidade ou velocidade do processo germinativo. Embora esperasse que um efeito negativo na germinação venha acontecer nos bioensaios, o oposto também pode acontecer, ou seja, um estímulo à germinação. Como o observado por Purohit & Pandya (2013) a partir do extrato aquoso de *O. sanctum* aplicado em sementes de feijão, grão de bico e grama.

No crescimento a na massa das plântulas bioindicadoras em alguns casos foram verificados uma inibição completa destas características quando se usou o óleo essencial de *O. basilicum* 100 % (FANAIEI et al., 2013), *O. gratissimum* novamente *O. basilicum* (MIRANDA et al., 2015a). E parcial em *O. sanctum* (PUROHIT & PANDYA, 2013).

3.2 *Salvia* sp.

Os bioensaios com plantas deste gênero empregaram majoritariamente as folhas preparadas a partir de extrato aquoso com tempo variável de embebição. As quais foram coletadas em épocas variadas sem a preocupação da padronização conforme o estado fenológico das plantas. Alguns estudos também revelaram haver diferenças nos resultados quando empregou-se folhas frescas e secas (ROWSHAN & KARIMI, 2013).

Também empregou-se uma diversidade de espécies bioindicadoras desde

gramíneas, cereais e s plantas daninhas (ROWSHAN & KARIMI, 2013; ARAFAT et al., 2015; CRUZ-SILVA et al., 2016). Os resultados demonstraram que as raízes geralmente foram as mais comprometidas quando comparada às brotações e folhas ou coma germinação das plantas analisadas.

O comprimento e a biomassa da raiz de amendoim bravo e soja foi reduzido a mais de 50% comparado ao controle quando foi utilizado o extrato de folhas secas de *Salvia officinalis* L. (SILVA et al., 2015). Em milho extrato aquoso de folhas de *Salvia macrosiphon* BOISS. a 1, 3 e 9%, inibiram a absorção de K⁺ pelas raízes de milho o que comprometeu o alongamento e ganho de massa das mesmas na parte aérea o efeito inibitório somente foi verificado em folhas frescas (ROWSHAN & KARIMI, 2013).

Como discutido anteriormente o efeito da sazonalidade tem ação sobre a composição química devido a interação que as plantas adquiriram com o meio ambiente ao longo do seu processo evolutivo (SMITHA & TRIPATHY, 2016). Foi o que observaram Viecelli et al, (2009) em um estudo que também abordou o fator sazonalidade associado a diferentes formas no preparo do extrato em sementes de alface. Os autores verificaram que plântulas anormais, raízes foram mais da alface foram mais afetadas na quando *S. officinalis* L. foram coletadas na primavera verão.

3.3 *Satureja sp*

O óleo essencial (OE) de diferentes espécies de *Satureja* foram empregados em bioensaios com o intuito de verificar o seu potencial bioherbicida. Taban et al. (2013) conduziram um estudo de alelopatia com diferentes espécies de *Satureja* spp., *S. khuzestanica*, *S. bachtiarica*, *S. rechingeri* e *S. spicigera*, em sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum*) e centeio (*Secale cereale*). Os autores verificaram que o OE de *S. khuzestanica* e *S. rechingeri* mostraram alto efeito inibitório na germinação das sementes de centeio e tomate da dose de 400 µl L⁻¹. Hazrati et al. (2018) estudaram diferentes espécies de plantas e observaram que o OE de *Satureja hortensis* apresentou inibição do crescimento das raízes nas espécies *Amaranthus retroflexus* L., *Bromus tectorum* L. e *L. esculentum*. Uma nanoemulsão (NE) de óleo e água obtido a partir do OE de *Satureja hortensis* foi empregado para avaliar sua atividade herbicida em *Amaranthus retroflexus* e *Chenopodium album* (HAZRATI et al., 2017). Hazrati et al. (2017) verificaram que o efeito inibitório na germinação foi maior na concentração de 800 µL L⁻¹ da NE. Quando aplicado em pós-emergência a letalidade completa foi observada na concentração de 4000 µL.L⁻¹ de NE pulverizado nas ervas daninhas. O efeito inibitório nas plantas tratadas com as diferentes espécies de *Satureja* foi associado à presença principalmente do composto carvacrol presente no OE.

O extrato aquoso de *Satureja* também tem sido testado em bioensaios para testar os efeitos alelopáticos em diferentes espécies. Taban & Saharkhiz (2015) testaram os potenciais alelopáticos de extratos aquosos e pós foliares de três espécies de *Satureja*: *S. khuzestanica*, *S. bachtiarica* e *S. rechingeri* em duas culturas

hortícolas (agrião e tomate) e uma planta daninha (centeio). Esses autores verificaram que embora as respostas inibitórias tenham sido diferentes entre as espécies e em diferentes concentrações, os resultados demonstraram que extratos aquosos e pós secos dessas três espécies de *Satureja* têm uma atividade herbicida potente. O extrato aquoso de *Satureja thymbra* apresentou efeitos inibitórios sobre o crescimento de raízes e plântulas de *Pinus halepensis* Mill. e *Ceratonia siliqua* L. (MASOUD et al., 2018). Os resultados desses trabalhos sugerem que as diferentes espécies de *Satureja* apresentam uma atividade herbicida potente, e tanto o OE quanto os extratos aquosos podem ser usados como herbicidas naturais para o controle de plantas daninhas em uma agricultura sustentável.

3.4 *Rosmarinus officinalis* L.

O extrato aquoso de *Rosmarinus officinalis* tem sido estudado em bioensaios com o intuito de verificar o seu potencial bioherbicida. Extratos aquosos frios e quentes obtidos de folhas de *R. officinalis* foram testados em *Panicum turgidum*, *Eleusine indica*, *Cynodon dactylon* L. e *Digitaria sanguinalis* e o grau de inibição na germinação e no crescimento das espécies receptoras variou de acordo com a concentração (EL-KENANY & FAKHRY, 2016; CHEN et al., 2013). Além disso, testes utilizando o pó ou a planta fresca em cobertura de diferentes partes da planta foram utilizados e o seu efeito inibitório na germinação demonstrou ser dependente das concentrações empregadas. A adição de 2 g.kg⁻¹ de material seco da parte aérea de *R. officinalis* incorporado no solo em vasos foi altamente tóxica para a germinação das plantas daninhas *Amaranthus retroflexus* e *Chenopodium murale* (QASEM, 2002). Os resultados indicaram que *R. officinalis* tem potencial de ser utilizado como planta de cobertura (ou resíduos como cobertura) para controle de plantas daninhas.

O óleo essencial (OE) de *R. officinalis* também foi testado em bioensaios com o intuito de verificar o seu potencial bioherbicida. Diferentes partes da planta e diferentes estádios de desenvolvimento foram utilizadas para a extração do OE. Alipour & Saharkhiz (2016) extraíram o OE em diferentes estádios de crescimento: floração plena, frutificação e fruta madura e testaram seu efeito alelopático em alface espinhosa (*Lactuca serriola* L.) e em rabanete (*Rhaphanus sativus* L.). O efeito inibitório de alecrim demonstrou ser dependente do estágio fenológico da planta e das concentrações de OE testadas. Essa diferença pode ser atribuída aos diferentes componentes do óleo: α -pinene (25,8-27,7%), cânfora (8,6-9%), canfeno (6,5-7,7%) e 1, 8-cineol (9,4-9,6%). Atak et al. (2016) utilizaram o OE em cinco cultivares de trigo e duas espécies de plantas daninhas: *Avena sterilis* e *Sinapis arvensis*. Esses autores verificaram que o OE de alecrim causou 85 a 100% de redução na germinação de *S. arvensis*. Esses resultados mostram que o óleo essencial de *R. officinalis* pode ser considerado como potencial aleloquímico alternativo usado no controle de plantas daninhas.

3.5 *Thymus* sp.

De acordo com a *plant list* o gênero *Thymus* contém mais de 300 espécies (PLANT LIST, 2019). A ação alelopática de compostos presentes nas plantas do gênero *Thymus* também se mostrou favorável em limitar a germinação de *Medicago sativa* L. e *Triticum aestivum* L. Ali et al. (2014) verificaram que o extrato metanólico de *Thymus numidicus* Poir. a 1 mg/mL inibiu a germinação em 79,2% de *M. sativa* L. e 79,5% em *T. aestivum* L. Quando utilizado o óleo essencial das folhas de *Thymus algeriensis* Boiss. 1mg/mL do óleo essencial inibiu a germinação em ambas as espécies em 100% (ALI et al., 2015). Já em *Thymus vulgaris* L. nenhuma das concentrações de óleo essencial foi capaz de causar danos a germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (MIRANDA et al., 2015b). Também *Thymus kotschyanus* reduziu a germinação de a velocidade de germinação de *Bromus tomentellus* e *Trifolium repens* (SAFARI et al., 2010).

Sobre as crescimento das plântulas bioindicadoras os efeitos foram diversos desdredução do comprimento da raiz e parte aérea em *L. sativa* L. (MIRANDA et al., 2015b), redução da massa seca e fresca das plântulas em *B. tomentellus* e *T. repens* (SAFARI et al., 2010), danos no crescimento do hipocótilo e radícula de *M. sativa* L. e *T. aestivum* L. e também na biomassa a concentrações de 0,1 mg/ml de óleo essencial (ALI et al., 2015) e o peso seco das plântulas reduziu em 73,8% quando tratadas com extrato metanólico a 1 mg/ml. de raízes de *T. numidicus* Poir. (ALI et al., 2014).

Espécie utilizada como bioerbicida	Órgão utilizado	Tipo de formulação	Concentração recomendada	Espécie bioindicadora	Referências
<i>Ocimum</i> sp.	folhas e flores brotações	extrato aquoso/24h óleo essencial	100 g.L ⁻¹ 100%	<i>Abutilon theophrasti</i> , <i>Chenopodium album</i> <i>Centaurea depressa</i>	Fanaei et al. (2013)
<i>Ocimum tenuiflorum</i>	folhas, caules e raízes	extrato metanólico 70% (v/v) durante 2 dias	30 mg mL ⁻¹ a 100 mg mL ⁻¹	<i>Lepidium sativum</i> L. <i>Lactuca sativa</i> L. <i>Medicago sativa</i> L. <i>Lolium multiflorum</i> Lam. <i>Echinochloa crusgalli</i> L. <i>Phleum pratense</i> L.	Islam & Kato-Noguchi, (2014)
<i>Ocimum sanctum</i> L.	folhas	extrato aquoso/24 h	1%	<i>Phaseolus</i> sp. <i>Cajanus cajan</i> L. <i>Cicer arietinum</i> L.	Purohit & Pandya, (2013)

<i>Ocimum basilicum</i> L. 'Maria Bonita'	folhas	extrato aquoso óleo essencial	1%	<i>Lactuca sativa</i> L. <i>Solanum lycopersicum</i> L. <i>Melissa officinalis</i> L.	Rosaldo et al. (2009)
<i>Ocimum basilicum</i> L. <i>Ocimum gratissimum</i> L.	folhas	óleo essencial	1%	<i>Lactuca sativa</i> L. 'regina'	Miranda et al. (2015a)
<i>Salvia moorcroftiana</i> Wall. ex Benth.	folhas	extrato aquoso	60% e 100%	<i>Helianthus annuus</i> L. <i>Triticum sativum</i> L. <i>Euphorbia helioscopia</i> L.	Arafat et al. (2015)
<i>Salvia macrosiphon</i> BOISS.	folhas	extrato aquoso óleo essencial	1, 3 e 9%	<i>Zea mays</i> L.	Rowshan & Karimi, (2013)
<i>Salvia officinalis</i> L.	folhas	extrato aquoso		<i>Euphorbia heterophylla</i> L. <i>Glycine max</i> L.	Silva et al. (2015)
<i>Salvia officinalis</i> L.	folhas	cobertura vegetal	-	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. <i>Panicum maximum</i> Jacq. <i>Salvia hispanica</i> L.	Cruz-Silva et al. (2016)
<i>Thymus kotschyanus</i>	Broto, caules, folhas e raízes	extrato aquoso/24 h	50%, 75% e 100%	<i>Bromus tomentellus</i> <i>Trifolium repens</i>	Safari et al, (2010)
<i>Thymus vulgaris</i> L.	folhas	óleo essencial	0,5%	<i>Lactuca sativa</i> 'Regina'	Miranda et al. (2015b)
<i>Thymus numidicus</i> Poir.	folhas, caules e raízes	éter de petróleo, acetato de etila e metanol	1mg/ml	<i>Medicago sativa</i> L. <i>Triticum aestivum</i> L.	Ali et al. (2014)
<i>Thymus algeriensis</i> Boiss	folhas	óleo essencial	1mg/ml	<i>Medicago sativa</i> L. <i>Triticum aestivum</i> L.	Ali et al. (2015)

Quadro 1. Inibição alelopática de plantas da família Lamiaceae sobre plantas bioindicadoras.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de plantas da família Lamiaceae tem inicialmente comprovada sua ação alelopática. Pois os ensaios *in vitro* permitiram verificar a atuação dos metabólitos secundários em funções vitais fisiológicas e metabólicas destas plantas. O passo seguinte será viabilizar metodologias que garantam a estabilidade dos metabólitos em campo, pois muitos deles são facilmente degradáveis no campo.

REFERÊNCIAS

- ALGANDABY, M. M.; EL-DARIER, S. M. Management of the noxious weed; *Medicago polymorpha* L. via allelopathy of some medicinal plants from Taif region, Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 7, p. 1339-1347, nov, 2018.
- ALI, I. B. E. H.; BAHRI, R.; CHAOUACHI, M.; BOUSSAID, M.; HARZALLAH-SKHIRI, F. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. organs. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 188-195, dec, 2014.
- ALI, I. B. E. H.; CHAOUACHI, M.; BAHRI, R.; CHAIEB, I.; BOUSSAID, M.; HARZALLAH-SKHIRI, F. Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. **Industrial Crops and Products**, v. 77, n. 23, p. 631-639, dec, 2015.
- ALIPOUR, M.; SAHARKHIZ, M. J. Phytotoxic activity and variation in essential oil content and composition of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) during different phenological growth Stages. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 7, p. 271-278, jul, 2016.
- ARAFAT, Y.; KHALID, S.; LIN, W.; FANG, C.; SADIA, S.; ALI, N.; AZEEM, S. Allelopathic evaluation of selected plants extract against broad and narrow leaves weeds and their associated crops. **Academia Journal of Agricultural Research**, v. 3, n. 10, p. 226-234, oct, 2015.
- ATAK, M.; MAVI, K.; UREMIS, I. Bio-Herbicidal Effects of Oregano and Rosemary Essential Oils on Germination and Seedling Growth of Bread Wheat Cultivars and Weeds. **Romanian Biotechnological Letters**. v. 21, n. 1, p. 11149-11159, 2016.
- BABALOLA, O. O. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, nov, 2010.
- BALICEVIC, R.; RAVLIC, M.; KLEFLIN, J.; TOMIC, M. Allelopathic activity of plant species from Asteraceae and Polygonaceae family on lettuce. **Herbologia**, v. 16, n. 1, 2016.
- BARTUCCA, Maria Luce; DI MICHELE, Alessandro; DEL BUONO, Daniele. Interference of three herbicides on iron acquisition in maize plants. **Chemosphere**, v. 206, p. 424–431, sep, 2018.
- BENECH-ARNOLD, R. L.; SÁNCHEZ, R. A. **Modeling weed seed germination**. In: Seed development and germination. Routledge, 2017. p. 545-566.
- BERRY, P. E. **Lamiales**. **Encyclopædia Britannica**. Disponível em: <https://www.britannica.com/plant/Lamiales>. Acesso em: 19/07/2019.
- BOIAGO, N. P.; FORTES, A. M. T.; PILATTI, D. A.; DA SILVA, P. S. S. Allelopathic bioactivity of fresh and infused aqueous extracts of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) on lettuce and maize. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 40, n. 1, p.1-9, oct, 2018.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**, Brasília: Mapa/ACS, 395p., 2009. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf. Acesso em: 26/07/2019.
- CHEN, F.; PENG, S.; CHEN, B.; NI, G.; LIAO, H. Allelopathic potential and volatile compounds of *Rosmarinus officinalis* L. against weeds. **Allelopathy Journal**, v. 32, n. 1, p. 57-66, 2013.
- CHOWDHARY, K.; KUMAR, A.; SHARMA, S.; PATHAK, R.; JANGIR, M. *Ocimum* sp.: Source of biorational pesticides. **Industrial crops and products**, v. 122, n. 15, p. 686-701, oct, 2018.

- CRUZ-SILVA, C. T. A.; NÓBREGA, L. H. P.; DELLAGOSTIN, S. M.; SILVA, C. F. G. *Salvia officinalis* L. coverage on plants development. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 488-493, mai, 2016.
- DUKE, S. O. Proving allelopathy in crop–weed interactions. **Weed Science**, v. 63, n. 1, p. 121-132, feb, 2015.
- EL-KENANY, E. T.; FAKHRY, A. M. Phytotoxicity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L. to Control the Noxious Weed, *Panicum turgidum* Forssk. **Egyptian Journal Botany**, v. 56, n. 2, pp. 381-393 2016.
- FANAEI, M.; ABOUTALEBI, A.; MOHAMMADI, S. A. Allelopathic effects of sweet basil (*Ocimum basilicum*) extract and essence on plantlet growth of three weed species. **International Journal of Agronomy and Plant Production**, v. 4, n. 4, p. 647-649, 2013.
- HAZRATI, H.; SAHARKHIZA, M. J.; MOEIN, Mahmoodreza, KHOSHGHAL, Hassan. Phytotoxic effects of several essential oils on two weed species and Tomato. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 13, p. 204-212, 2018.
- HAZRATI, H.; SAHARKHIZ, M. J.; NIAKOUSARI, M.; MOEIN, M. Natural herbicide activity of *Satureja hortensis* L. essential oil nanoemulsion on the seed germination and morphophysiological features of two important weed species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 423-430, aug, 2017.
- ISLAM, A. K. M.; KATO-NOGUCHI, H. Phytotoxic activity of *Ocimum tenuiflorum* extracts on germination and seedling growth of different plant species. **The Scientific World Journal**, p. 1-8, jun, 2014.
- ISTA — INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Species and variety testing**. In: International rules for seed testing. Bassersdorf, 2008. cap. 8, p. 8.1-8.32.
- KAUR, S.; KAUR, R.; CHAUHAN, B. S. Understanding crop-weed-fertilizer-water interactions and their implications for weed management in agricultural systems. **Crop Protection**, v. 103, p. 65-72, jan, 2018.
- MAGALHÃES, H. M.; LOPES, P. S. N.; SILVÉRIO, F. O.; SILVA, H. F. J. Effects of *Butia capitata* pyrenes extracts on the germination of lettuce seeds. **Allelopathy Journal**, v. 30, n. 1, p. 49-60, jun, 2012.
- MASOUD, M.; OMAR, M. A. K.; SALEH, A.. Allelopathic effects of aqueous extract from *Satureja thymbra* L. on seed germination and seedling growth of *Pinus halepensis* Mill. and *Ceratonia siliqua* L. **Libyan Journal of Science & Technology**, v. 7, n. 1, p. 17-20, feb, 2018.
- M'BAREK, K.; ZRIBI, I.; HAOUALA, R. Allelopathic effects of *Tetralinis articulata* on barley, lettuce, radish and tomato. **Allelopathy Journal**, v. 43, n.2, p. 187-202, feb, 2018.
- MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; CARVALHO, M. L. M.; MACHADO, S. M. F.; GOMES, M. S.; ANDRADE, J.; TEIXEIRA, M. L. Allelopathic activity of medicinal plant essential oils on seed germination and vigor of lettuce achenes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 3, p. 1783-1798, 2015a.
- MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; CARVALHO, M. L. L. M.; MACHADO, S. M. F.; ANDRADE, M. A.; OLIVEIRA, C. M. Análise comparativa do potencial alelopático do óleo essencial de *Thymus vulgaris* e seu constituinte majoritário na germinação e vigor de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **E-xacta**, v. 8, n. 2, p. 45-53, nov, 2015b.

- NASRINE, S.; EL-DARIER, S. M.; EL-TAHER, H. M. Allelotoxicity of *Oudneya africana* R. Br. aqueous leachate on germination efficiency of *Bromus tectorum* L. and *Triticum aestivum* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 10, p. 1194–1197, mar, 2014.
- OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B.; CAJAZEIRA, J. P. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, pp. 162-174, may, 2013.
- PLANT LIST, 2019.** Disponível em: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-205645>. Acesso em: 24/07/2019.
- PUROHIT, S.; PANDYA, N. Allelopathic activity of *Ocimum sanctum* L. and *Tephrosia purpurea* (L.) Pers. leaf extracts on few common legumes and weeds. **International Journal of Research in Plant Science**, v. 3, n. 1, p. 5-9, 2013.
- QASEM, J. R. Allelopathic effects of selected medicinal plants on *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium murale*. **Alelopathy Journal**, v. 10, n. 2, p. 105-122, 2002.
- ROSADO, L. D. S.; RODRIGUES, H. C. A.; PINTO, J. E. B. P.; CUSTÓDIO, T. N.; PINTO, L. B. B.; BERTOLUCCI, S. K. V. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjeriço “Maria Bonita” na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.
- ROWSHAN, V.; KARIMI, S. Essential oil composition and allelopathic affect of *Salvia macrosiphon* Boiss. on *Zea mays* L. **International Journal of Agriculture**, v. 3, n. 4, p. 788, 2013.
- SAFARI, H.; TAVILI, A.; SABERI, M. Allelopathic effects of *Thymus kotschyanus* on seed germination and initial growth of *Bromus tomentellus* and *Trifolium repens*. **Frontiers of Agriculture in China**, v. 4, n. 4, p. 475-480, 2010.
- SINGH, S.; SINGH, M. Interactions of basil (*Ocimum sanctum* L.) with some weed species-competition or allelopathy?. **Indian Journal of Weed Science**, v. 41, n. 1 and 2, p. 12-22, 2009.
- SILVA, A. L. K.; SILVA, K. G.; PAULERT, R.; ZONETTI, P. Costa; ALBRECHT, L. P. Germinação e Crescimento Inicial de Plântulas de *Euphorbia heterophylla* L. e *Glycine max* L. Merrill na Presença de Extratos Foliaves de *Salvia officinalis* L. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 8, n. 2, p. 291-301, mai/ago, 2015.
- SMITHA, G. R.; TRIPATHY, V. Seasonal variation in the essential oils extracted from leaves and inflorescence of different *Ocimum* species grown in Western plains of India. **Industrial crops and products**, v. 94, n. 30, p. 52-64, dec, 2016.
- SUWITCHAYANON, P.; KUNASAKDAKUL, K.; KATO-NOGUCHI, H. Screening the Allelopathic Activity of 14 Medicinal Plants from Northern Thailand. **Environmental Control in Biology**, v. 55, n.3, p. 143-145, 2017.
- TABAN, A.; SAHARKHIZA, M. J.; HADIANB, J. Biological Agriculture & Horticulture: An International Journal for Sustainable Production Systems. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 29, n. 4, p.244–257, 2013.
- TABAN, A.; SAHARKHIZ, M. J. Natural phytotoxic activity of water extract sand dried leaf powders of three *Satureja* species. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 594–602, oct, 2015.
- VIECELLI, C. A.; DA CRUZ-SILVA, C. T. A. Effect of seasonal variation in *Sálvia* allelopathy potential. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 39-46, 2009.

PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS DO ESPÍRITO SANTO: O ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E FRUTOS DA ESPÉCIE *Schinus terebinthifolia* RADDI (AROEIRA VERMELHA)

Maria Diana Cerqueira Sales

Diana Sales- Consultoria e Biotecnologia (DSBio®)- P&D em Produtos e Serviços Inovadores na Saúde- Vitória- ES.

Ricardo Machado Kuster

Universidade Federal do Espírito Santo- UFES- Laboratório de Cromatografia, Labpetro- Vitória- ES.

Fabiana Gomes Ruas

Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural- Incaper- Vitória- ES.

José Aires Ventura

Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural- Incaper- Vitória- ES.

RESUMO: *Schinus terebinthifolia* é popularmente conhecida como “pimenta-rosa”, “aroeira-vermelha”, “aroeira-da-praia” e compõe um importante grupo entre as espécies de plantas medicinais e aromáticas com aplicação nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica. Considerando exigências da sociedade por produtos de qualidade, buscou-se, neste trabalho, identificar insumos bioativos, em óleos essenciais (OEs), obtidos a partir de folhas e frutos de genótipos da aroeira. Nos OEs, obtidos de folhas (F01 A F04) e frutos (FR01 a FR07), foi utilizado o processo da hidrodestilação. Métodos analíticos foram utilizados para realizar análises do OEs por

Cromatografia de Fase Gasosa (CG HP6890) e acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM HP5973). Os cromatogramas mostraram que o OE dos frutos da espécie *S. terebinthifolia* contem uma predominância monoterpênica (70,85%), com β -mirceno (26,73%), δ 3-careno (17,46%), α - felandreno (15,17%), α -pineno (9,33%) e o Limoneno (36,85%), como constituinte majoritário e as análises do OE obtido a partir das folhas, mostraram como constituinte majoritário, o p- cimeno (8,43%). Os resultados das análises cromatográficas dos óleos essenciais da espécie *Schinus terebinthifolia*, mostraram constituintes bioativos, como uma rica fonte de matéria prima para o desenvolvimento de produtos fitoterápicos estratégicos.

PALAVRAS-CHAVE: *Schinus terebinthifolia*; Aroeira; Óleo essencial; Plantas medicinais e aromáticas.

ABSTRACT: *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae; also reported under its synonym: *S. terebinthifolius*) is popularly known “pimenta-rosa”, “aroeira-vermelha”, “aroeira-da-praia” e pimenta-rosa, constitutes an important group between medicinal and aromatic species with economic value, due to its application in the food, cosmetic and pharmaceutical industry. Since society has been exigent to choice qualified products, in this work we aimed

identification of bioactive products, essential oils (EOs) from leaves and fruits of aroeira genotypes. EOs from leaves (F01-F04) and fruits (the FR01- FR07), were obtained from the hydro-distillation. Analytical methods were used to perform analyses of OEs by Gas Chromatography (GC HP6890) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS HP5973). The chromatograms showed that the EO of *S. terebinthifolia* fruits contains a predominance of monoterpenes (70.85%), with β -mirceno (26,73%), δ 3-careno (17,46%), α -felandreno (15,17%) e o α -pineno (9,33%) and the Limoneno (36,85%), as major constituents and the analyses of EO of leaves showed, as major constituent, the p-cimeno (8,43%). The result of the chromatographic analyzes, of essential oils of *Schinus terebinthifolia* species, showed bioactive constituents as a rich source of raw material for the development of strategic phytopherapeutic products.

KEYWORDS: *Schinus terebinthifolia*; Aroeira; Essential oil; medicinal and aromatic plants.

1 | INTRODUÇÃO

Plantas medicinais ou aromáticas são utilizadas visando principalmente o crescente mercado de produtos naturais a partir de fontes renováveis. Além de serem utilizadas como matérias primas para a indústria alimentícia, têm produtos do seu metabolismo primário e secundário destinados a outros setores, como a indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; LUBBE; VERPOORTE, 2011).

Atualmente, os atributos de qualidade de produtos associados à segurança do alimento, boas práticas agrícolas e biotecnologia são temas presentes no setor agroindustrial (CONCEIÇÃO, 2012). O estímulo à geração de produtos agropecuários estratégicos, visando novos patamares de competitividade do agronegócio brasileiro, priorizando a biodiversidade do país, faz parte da Política de Desenvolvimento da Biotecnologia no País (BRASIL, 2007).

A espécie *Schinus terebinthifolia* (Anacardiaceae; sin: *S. terebinthifolius* Raddi) é popularmente conhecida como “pimenta-rosa”, “aroeira-vermelha”, “aroeira-da-praia”. A aroeira é uma planta nativa da América do Sul, presente na biodiversidade brasileira, oriunda de comunidades tradicionais indígenas (como nas comunidades Tupiniquim e Guarani, da cidade de Aracruz-ES), além de apresentar uma ampla plasticidade ecológica, compõe um importante grupo entre as espécies de plantas medicinais e aromáticas com valor econômico (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; LUBBE; VERPOORTE, 2011; SALES et al., 2016). No Brasil, através do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicas (PNPMF), que incentiva a pesquisa com plantas, exóticas adaptadas ou nativas, a espécie foi incluída na Relação Nacional de Fitoterápicos (RENAFITO), por evidências de segurança, eficácia do uso tradicional e atividades farmacológicas (BRASIL, 2009), como antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana. Atualmente, o estado do Espírito Santo é o maior produtor de aroeira,

para o mercado alimentício (SALES et al., 2016).

Estudos descrevem a utilização de diversas formas extrativas da aroeira e suas atividades farmacológicas, as mais diferenciadas, destacando-se a antioxidante (DEGÁSPARI; WASCZYNSKY; dos SANTOS, 2004; VELÁSQUEZ et al., 2003) e antimicrobiana e inseticida (DEGÁSPARI; WASCZYNSKY; PRADO, 2005; LIMA et al., 2006; MARTÍNEZ et al., 1996; MELO-JÚNIOR et al., 2002). Estas atividades estão relacionadas à presença de flavonoides (principalmente nos frutos, de biflavonóides), taninos, ácidos triterpênicos e, de mono e sesquiterpenos no óleo essencial de frutos e folhas da espécie (BARBOSA et al., 2007; CERUKS et al., 2007; CORREIA et al., 2006; OLIVEIRA, 2012), com aplicação nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Considerando exigências cada vez maiores da sociedade e dos mercados consumidores por produtos qualificados buscou-se, neste trabalho, identificar insumos bioativos a partir de Óleos essenciais (OE), obtidos a partir de folhas e frutos em genótipos da espécie *Schinus terebinthifolia*, como potencial matéria prima para o desenvolvimento de bioprodutos para a saúde humana e animal.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

Frutos (maduros) e folhas frescas, de diferentes genótipos da espécie *Schinus terebinthifolia*, foram coletados no município de Pedro Canário (latitude: -18° 01' 49"; longitude: -40° 09' 02") – ES, Brasil e após identificação da espécie botânica, exsicatas foram depositadas no herbário do Museu de Biologia Mello Leitão, Santa Tereza-ES (n° 41895) e no herbário UFES-VIES, em Vitória, ES (n° 39064), sendo as plantas clonadas e mantidas no Banco de Germoplasma de Aroeira do Incaper. Amostras foram identificadas a partir dos frutos como, FRAR (FR01 a FR07) e, das folhas FAR (F01 A F04).

2.2 Obtenção do Óleo Essencial (Oe) a Partir de Frutos e Folhas dos Genótipos

O óleo essencial (OE) foi obtido por hidrodestilação, a partir de frutos e folhas frescas, utilizando o aparelho de Clevenger (FB, 2010), durante 4 horas de aquecimento (mantido na temperatura mínima necessária à ebulição), em circuito fechado, para evitar as perdas de óleo por evaporação. Previamente à extração, as amostras, contendo os frutos de aroeira, FRAR (FR01 a FR07), foram trituradas com água purificada. A mistura triturada foi colocada no balão volumétrico juntamente com água, e aquecida até a ebulição. O mesmo procedimento foi executado para as amostras das folhas da aroeira, FAR (F01 A F04). Ou seja, as amostras foram colocadas em balão volumétrico juntamente com água, e aquecida até a ebulição e mantidas por 4

horas de aquecimento (temperatura mínima necessária à ebulição). Assim, os óleos foram carregados com o vapor d'água e posteriormente condensados. Após o tempo de extração, o óleo essencial (OE) de cada amostra, junto com a água, foi recolhido no funil de separação, onde foram separados por decantação devido à diferença de densidades (Figura 1).



Figura 1- Obtenção do Óleo Essencial a partir de folhas e frutos da Aroeira (*S. terebinthifolia*) por hidrodestilação (aparelho de Clevenger).

O OE obtido foi armazenado em recipiente hermeticamente fechado e mantido sob refrigeração a 5°C até a utilização nas análises.

2.3 Identificação dos Constituintes Químicos do OE

A composição química dos óleos essenciais foi obtida em análises de amostras de OEs da aroeira, por Cromatografia de fase gasosa (CG) e Cromatografia em fase gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM), segundo literatura consultada (FB, 2010; ADAMS, 2001), utilizando cromatógrafo a gás (HP6890) acoplado a espectrômetro de massa (HP5973, operando a 70 eV), coluna ZB5-MS (Zebtron) com fase estacionária de 5% fenilmetilsiloxano, comprimento de 30m, diâmetro interno 0.25mm, espessura da fase 0.25 micrômetros, com a seguinte condição de análise: injetor na temperatura 260°C, interface na temperatura 200°C e programação 60°C a 290°C, numa rampa de 3°C/min. O gás carreador foi o hélio, com pressão constante de 5 psi, fluxo de 1ml/min. Padrões de n-alcenos foram injetados nas mesmas condições da análise. A identificação dos constituintes químicos das amostras foi realizada por comparação de seus espectros de massas das substâncias eluídas, com aqueles presentes em biblioteca NIST 05 e através do índice de Kovats (KI) calculado a partir da série de n-alcenos (de C7- C30) (ADAMS, 2001).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção e Identificação dos Constituintes Químicos

A extração do OE a partir de frutos e folhas da espécie *S. terebinthifolia*, por hidrodestilação mostrou-se eficaz, o que condiz com a literatura consultada, para escolha de métodos (BARBOSA et al., 2007). Os principais constituintes químicos, dos Óleos Essenciais (OE) foram identificados pelos índices de retenção (IK) e por comparação dos espectros de massas dos constituintes do óleo com os espectros do banco de dados existentes na biblioteca NIST (ADAMS, 2001). A análise comparativa dos óleos essenciais permitiu a identificação e quantificação, principalmente pela concentração relativa total de monoterpenos presentes nos frutos (maduros) e folhas frescos (Figura 2).

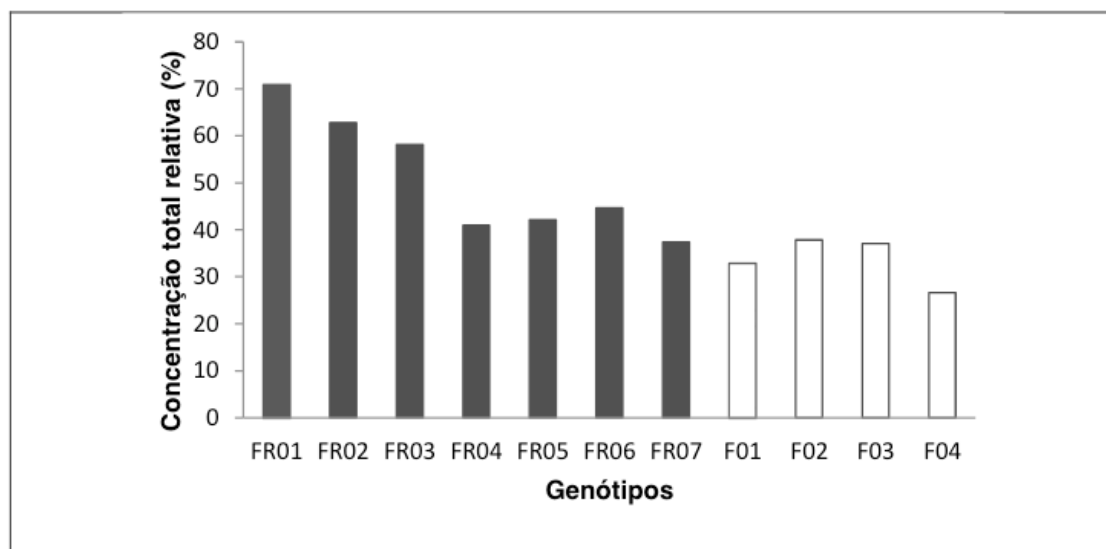


Figura 2- Concentração relativa total de monoterpenos em óleos essenciais (OE) obtidos de frutos (FR01 a FR07) e folhas (F01 a F04) de diferentes genótipos de *Schinus terebinthifolia*.

Observamos, na figura 2, que a concentração de monoterpenos nas amostras de OE de frutos (média de 51,0%) foram maiores quando comparadas aos teores apresentados pelas amostras de OE de folhas (média de 33,60%). Estudo comprobatório realizado, sobre a variação sazonal do óleo essencial a partir de frutos (maduros) e folhas frescas da aroeira (*S. terebinthifolia*) mostrou um maior teor de metabólitos secundários sesquiterpênicos em folhas (90,40%) do que em frutos (78,00%) e em contrapartida, foi identificada uma predominância monoterpênica em frutos de 90,0% (BARBOSA et al., 2007). O período de floração ou frutificação da planta acarreta um aumento ou diminuição de monoterpenos e de sesquiterpenos. Monoterpenos se encontram em maior concentração nos frutos, o que sugere que o metabolismo de classes metabólicas possa estar interligado, ou seja, um aumento no teor de monoterpenos é acompanhado de uma diminuição no de sesquiterpenos, e

vice-versa.

Foram detectadas diferenças, na concentração de monoterpenos, entre as 11 amostras de OE, apresentando maior rendimento para os óleos obtidos a partir dos frutos: FR01 (70,85%), FR02 (62,77%), FR03 (58,15%), FR04 (40,96%), FR05 (42,14%), FR06 (44,64%) e FR07 (37,45%), do que a partir das folhas: F01 (32,82%), F02 (37,85%), F03 (37,08%) e F04 (26,60%) (Figura 2). Todas as amostras de OE de frutos e folhas apresentaram, em diferentes concentrações, os monoterpenos D-limoneno, α -pineno, *p*.cimeno e β -mirceno. Foi possível identificar todos os nove monoterpenos nas amostras de OE a partir dos frutos, FR02 e FR03, onde foi detectado um alto teor relativo de β -mirceno (26,73% e 26,03%, respectivamente). A amostra de OE a partir de frutos da aroeira, FR01 (Figura 3), apresentou o maior percentual relativo de D-limoneno (36,85%) e representou a amostra de maior teor relativo de monoterpenos (70,85%). O menor rendimento para concentração relativa total de monoterpenos foi detectada na amostra F04 (26,6%).

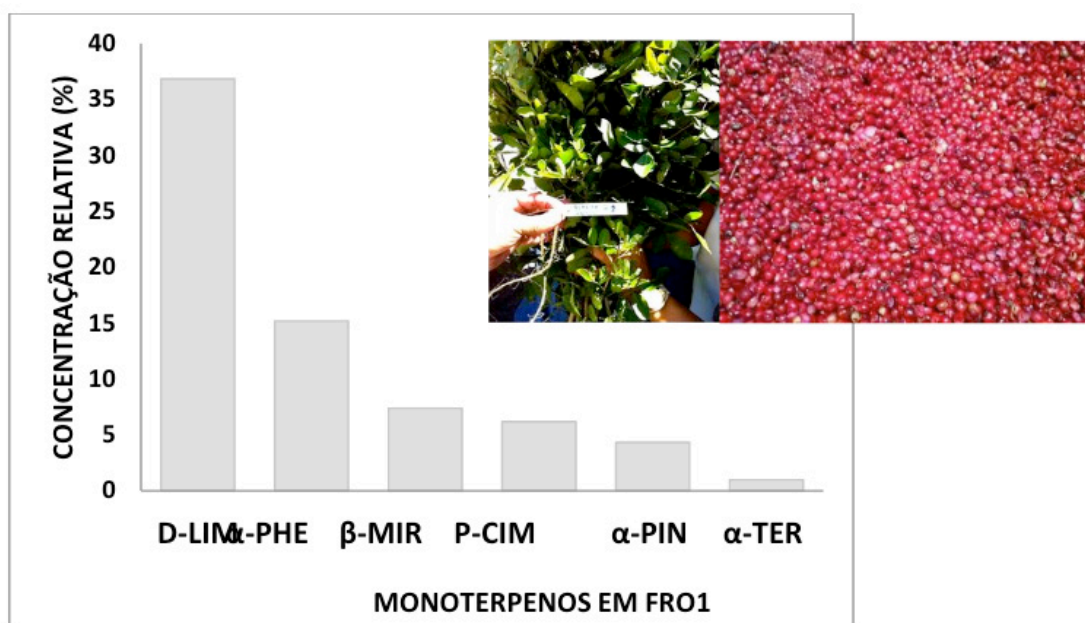


Figura 3- Planta Aroeira- amostra FR01 (muda) e frutos maduros (Pedro Canário- ES)

A variabilidade dos constituintes químicos majoritários nas amostras da espécie estudada sugere o envolvimento de fatores genéticos, geográficos e do *habitat* ou sistema de cultivo das plantas (Tabela 1). Entre os principais monoterpenos identificados pela análise cromatográfica (CG/EM) nos OE de frutos e folhas da aroeira, destacaram-se, pelo maior percentual de concentração relativa, em amostras de frutos: o (8) D- limoneno (36,85%), o (3) β -mirceno (26,73%), o (6) δ 3-careno (17,46%), o (4) α -felandreno (15,17%) e o (1) α -pineno (9,33%) e em amostras de folhas: o (7) *p*.cimeno (8,43%). Os monoterpenos, (2) β - pineno, (5) β - felandreno e (9) α -terpinoleno apresentaram-se em concentrações inferiores a 4%, sendo que α -terpinoleno foi o monoterpeno de menor teor relativo detectado em algumas amostras

(Tabela 1).

Monoterpenos e Concentrações relativas (%)										
OE ¹	TOTAL	α -PIN	β -PIN	β -MIR	α -PHE	β -PHE	3-CAR	<i>P</i> -CIM	D-LIM	α -TER
FR01	70,85	4,32	-	7,36	15,17	-	-	6,19	36,85	0,96
FR02	62,77	2,30	2,65	26,73	7,59	2,78	3,69	4,86	11,21	0,96
FR03	58,15	1,98	1,86	26,03	6,64	2,49	3,44	4,56	10,32	0,83
FR04	40,96	5,80	-	2,85	3,57	-	2,02	5,53	21,19	-
FR05	42,14	2,56	-	3,05	-	-	14,63	3,59	18,31	-
FR06	44,64	5,79	-	3,53	-	3,57	17,46	5,75	8,54	-
FR07	37,45	9,33	1,00	2,75	7,65	1,88	-	8,20	6,64	-
F01	32,82	1,49	-	1,91	-	-	13,94	2,75	12,25	0,48
F02	37,85	3,34	-	2,80	4,92	-	2,08	8,46	16,25	-
F03	37,08	1,10	-	17,93	2,34	1,11	3,31	4,91	6,39	-
F04	26,60	4,35	0,53	2,21	7,00	1,29	-	5,80	4,68	0,65

Tabela 1- Concentração relativa (%) dos principais monoterpenos identificados pela análise do OE de *Schinus terebinthifolia*, por Cromatografia em fase gasosa (CG) e Cromatografia em fase gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM).

¹ Amostras (OE): Óleo Essencial: FR01 A FR07: OE Fruto da Aroeira; F01 A F04: OE Folha da Aroeira. ² α -PIN: α -pineno; β -PIN: β -pineno; β -MIR: β -mirceno; α -PHE: α -felandreno; β -PHE: β -felandreno; 3-CAR: 3-careno; *P*-CIM: *P*-cimeno; D-LIM: D-limoneno; α -TER: α -terpinoleno. Traços (-): ausência.

Além da variabilidade química entre o OE de cada amostra, a variação do teor de constituintes monoterpênicos do OE de um mesmo exemplar, gerou uma constatação no mínimo intrigante.

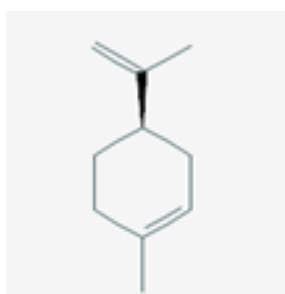


Figura 4- Estruturas monoterpênicas do D-Limoneno ($C_{10}H_{16}$) presentes em óleos essenciais de frutos e folhas de *Schinus terebinthifolia* (Fonte: PUBCHEM, 2017).

O alto teor relativo apresentado pelo D- Limoneno, tanto no OE de frutos como de folhas de *S. terebinthifolia*, coincidiu com um decréscimo (ou até mesmo nulidade) na produção de α -terpinoleno, sugerindo que o metabolismo, devido a notável semelhança estrutural molecular (posição da dupla ligação na “cauda isoprênica”) entre os dois constituintes monoterpênicos monocíclicos (Figura 4) poderia estar interligado, ou seja, um aumento na produção de um deles, demandada por fatores bióticos ou abióticos, acarretaria na diminuição na produção de outro, considerando a via metabólica de síntese do constituinte químico. Segundo Thaiz e Zaiger (2009), a variação química qualitativa e quantitativa de constituintes é determinada geneticamente (quimiotipos), sendo geralmente específica para um determinado órgão e característica para o seu

estágio de desenvolvimento. Entretanto as variações significativas na concentração relativa total de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época da coleta, condições climáticas e de solo (SOUZA, 2012; TAIZ; ZAIGER, 2009), sugerindo que o teor do óleo essencial seria mais influenciado pelas condições ambientais do que pela composição química do óleo. Os autores afirmam que a diferenciação genética refere-se à distribuição da variabilidade entre e dentro de populações e subpopulações naturais como resultado da ação de forças evolutivas que atuam dentro do contexto de cada espécie. A diversidade genética promove a matéria prima para a adaptação, a evolução e a sobrevivência dos indivíduos e das espécies, sendo fundamental para a sustentabilidade do ecossistema para sua conservação.

A variabilidade química, quanto à concentração relativa dos constituintes majoritários identificados nas nossas amostras do óleo essencial de genótipos da espécie *S. terebinthifolia*, foi evidenciada em relatos de outros estudos envolvendo a espécie, em diferentes estados do território nacional. Roveda et al. (2009) identificaram 18 constituintes químicos com predominância de monoterpenos de óleos de frutos coletados em Dourados (MS), destacando-se como majoritário o α -pineno (22,56%), sendo que os demais constituintes em maiores concentrações foram o sabineno (15,78%), z-salveno (10,69%), β -pineno (10,52%), α -funebreno (8,82%) e o limoneno (5,52%). No estudo de Barbosa et al. (2007), após extração de 3 horas, foram identificados como monoterpenos predominantes em óleo de folhas e frutos na cidade de Viçosa (MG), o δ 3-careno (5,82%), o α - felandreno (2,88%), o β - felandreno (4,49%) e o 4-terpeniol (2,24%).

Os resultados apresentados neste trabalho estão de acordo com a predominância, do monoterpeno Limoneno, na maioria dos estudos com aroeira. De acordo com estudos de Santos et al. (2007), a composição química do óleo essencial dos frutos maduros de *S. terebinthifolia* da cidade de Caxias do Sul (RS), constituiu de 17 constituintes, destacando em maior proporção os monoterpenos, o δ -3-careno, o D-limoneno e α -phellandreno com 60,41% do total de compostos identificados. Barbará e cols., (2008), evidenciaram a predominância monoterpênica de constituintes químicos no OE de frutos da espécie *S. terebinthifolia*, nativa do estado do Espírito Santo e identificaram a presença de 10 monoterpenos no OE de frutos de uma exemplar da região Sul do estado, entre eles o α -pineno (35,6%) como composto majoritário, seguido do D-limoneno (28,9%). Estudo (AFFONSO et al., 2012), com espécie *S. terebinthifolia*, no estado do ES, numa região próxima ao município de Pedro Canário, onde realizamos a coleta do nosso material vegetal (folhas e frutos), apresentaram evidência da presença majoritária do limoneno, por cromatografia em fase gasosa. Os autores identificaram a presença de β -pineno (10,11%), β -mirceno (9,30%), α -phellandreno (14,94%), limoneno (20,81%) e isosilvestreno (13,87%), como os principais constituintes químicos monoterpênicos do OE a partir de frutos de uma exemplar obtida na Reserva Florestal Rio Doce S/A, Linhares (latitude: -19°

23' 28"; longitude: -40° 04' 20")- ES. Os estudos que utilizaram espécies nativas de *S. terebinthifolia* do Espírito Santo, identificaram principalmente para amostras de OE de exemplares da espécie, uma predominância monoterpênica, não somente para o Δ 3-careno, mas também, o D- limoneno, o β -mirceno e o α - felandreno e o α -pineno.

Os diferentes resultados com predomínio de diferentes compostos no óleo essencial obtido a partir de exemplares de uma mesma espécie (quimiotipos) é frequentemente devido à alta complexidade química dos óleos essenciais (ROVEDA et al., 2010; SANTOS et al., 2007). Entretanto existe um consenso entre estudos realizados com a espécie *S. terebinthifolia*, quanto à predominância monoterpênica nos óleos essenciais, principalmente provenientes da extração de frutos da espécie estudada.

Como os metabólitos de defesa das plantas, em resposta a fatores bióticos e abióticos são, em grande parte, ativados a partir de tais eventos (TAIZ; ZAIGER, 2009), foi observada neste estudo, uma variação química significativa na composição química do óleo essencial, extraído de frutos e folhas da espécie *S. terebinthifolia*. Existem quimiotipos bem definidos para cada região de coleta, principalmente aqui caracterizados pelos seus constituintes químicos majoritários, identificados no OE da amostra analisada da espécie *S. terebinthifolia*. Ficou evidenciado um possível Quimiotipo (QT), na planta fêmea FR01, que deve ser estudado no futuro, quanto à produção de limoneno como um potencial produtor de insumos ativos para o desenvolvimento de produtos bioativos fitoterápicos.

O registro da presença majoritária do limoneno (1-metil-4-isopropenilciclohex-1-eno) no óleo essencial do genótipo FR01 (identificada por técnicos do Incaper, como uma planta fêmea) foi de suma importância, pois este monoterpeneo, com caráter lipofílico, naturalmente encontrado nas cascas das frutas cítricas e de alguns pinheiros, tem adquirido uma importância fundamental devido a sua demanda como solvente biodegradável, precursor de novos fármacos (como a carvona) e na indústria farmacêutica e alimentícia, como adjuvante flavorizante e complemento alimentar (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Suplementos ou complementos alimentares (Nutracêuticos) estão ganhando reconhecimento substancial como agentes quimioprotetores (quimiopreventivos), devido a sua capacidade de atuar através de diversos mecanismos (PAN; HO, 2008). Estudos (MILLER et al., 2011) se referem ao Limoneno como um produto bioativo natural, visto que ensaios comprovam sua eficácia como substância antioxidante com potencial quimioprotetor.

Entre os constituintes voláteis de óleos cítricos e de outras plantas em potencial, como foi apresentado neste estudo pela espécie *S. terebinthifolia* Raddi, a presença predominante do monoterpeneo limoneno e a possibilidade de desenvolvimento de seus metabólitos ativos (ácido, aldeído e álcool perílico), evidencia a vantagem farmacológica de apresentar modelos de indução de citotoxicidade de células cancerígenas (MILLER et al., 2011), por mecanismos multifatoriais (entre eles, o uso de tensoativos/surfactantes) e estimula estudos de pesquisa e desenvolvimento de

agentes quimioterapêuticos fitoterápicos.

4 | CONCLUSÃO

O perfil fitoquímico do óleo essencial das folhas da espécie medicinal e aromática, *Schinus terebinthifolia*, apresentou predominância monoterpênica do limoneno, α -pineno, *p*-cimeno e β -mirceno, sendo que o perfil dos frutos dos genótipos apresentaram alto teor relativo de β -mirceno e limoneno. Destaque para o óleo essencial a partir do quimiotipo limoneno a partir dos frutos da espécie. O limoneno se apresenta como um produto bioativo natural, visto que estudos comprovam sua eficácia como substância antioxidante com potencial quimioprotetor e quimioterapêutico. O presente estudo aponta para aplicação destes óleos essenciais no desenvolvimento de produtos estratégicos de inovação com potencial econômico para as indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadruple mass spectroscopy**. Carol Stream: USA, Allured, Baylor University, 2001.

AFFONSO C.R.G.; FERNANDES, R.M.; DE OLIVEIRA, J.M.G; CARVALHO E MARTINS, M.C.; LIMA, S.G.; SOUSA JÚNIOR, G.R.; FERNANDES, M.Z.L.C.M.; ZANINI, S.F. Effects of the Essential Oil from Fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) on Reproductive Functions in Male Rats. **J. Braz. Chem. Soc.**, Campinas, v. 23, n.1, p.180-185, 2012.

BARBARÁ, J.A.; ALVES, G.H.; OLIVEIRA, D.H. DE; FARIAS, A.M.; SANTOS, M.A.Z. DOS; RODRIGUES, M.R.A. Identificação dos constituintes químicos do óleo de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) por cromatografia gasosa (GC/FID). In: XVI Encontro de Química da Região Sul (16-SBQsul), **FURB**, Anais..., Curitiba, 2008.

BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; CLEMENTE, A.D.; DE PAULA, V.F.; ISMAIL, F.M.D. **Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi** Química Nova, Curitiba, v. 30, n.8, p.1959-1965, 2007.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápico**, Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Decreto nº 6041**, de 08 de fevereiro de 2007. Institui a **Política de Desenvolvimento da Biotecnologia** e cria o Comitê Nacional de Biotecnologia. Brasília, 2007.

CONCEIÇÃO, J.C.P.R. **O papel do Estado na certificação dos produtos agrícolas**. Revista Desafios do Desenvolvimento, Brasília, ano 09, n.73, 2012.

CORREIA, S. de J.; JUCENI P. DAVID, J.P.; DAVID, J.M. **Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae**. Química Nova, Curitiba, v. 29, n. 6, 2006.

- CERUKS, M.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; LAGO, J. H. G.. **Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. Química Nova, Curitiba, v. 30, n. 3, p.597-599, 2007.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASCZYNSKY, J.N.; PRADO, M.R.M. **Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Ciênc. Agrotec., Lavras, v.29, n. 3, p. 617-622, 2005.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASCZYNSKY, J.N.; dos SANTOS, R.J. **Atividade antioxidante de Extrato de Fruto de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. Visão acadêmica, Lavras, v.5, n. 2, p. 83-89, 2004.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA (FB), 5ed., vol. 1. **Métodos Físicos e físico-químicos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010.
- LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M. C. C.; SANT'ANA, A. E. G.; GENET, J. P.; MARQUES, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. **Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants**. J. Ethnopharmacol., Limerick, v. 105, p. 137-47, 2006.
- LUBBE, A.; VERPOORTE, R. **Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials**. Industrial Crops and products, Amsterdam, v. 34, p. 785- 801, 2011.
- MARTINEZ, M.J.; ALONSO, N.G.; BETANCOURT, J.B. **Actividad antimicrobiana del *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal)**. Rev. cub. plantas med., Havana, v.1, n.3, p. 37-39, 1996.
- MELO-JÚNIOR, E. J. M.; RAPOSO, M. J.; LISBOA-NETO, J. A.; DINIZ, M. F. A.; MARCELINO-JÚNIOR, C. A. C.; SANT'ANA, A. E. G. **Medicinal plants in the healing of dry sockets in rats: microbiological and microscopic analysis**. Phytomedicine, Jena, Munich, v. 9, p. 109-16, 2002.
- MILLER, J.A.; THOMPSON, P.A.; HAKIM, I.A.; CHOW, H.-H. S.; THOMSON, C.A. **d-Limonene: a bioactive food component from citrus and evidence for a potential role in breast cancer prevention and treatment**. Oncol. Rev., Pavia, v.5, p.31-42, 2011.
- OLIVEIRA, D.M. **Estudo químico e biológico de Frutos de Plantas de interesse econômico: *Punica granatum* e *Schinus terebinthifolius***. 135f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2012.
- PAN M.; HO C. **Chemopreventive effects of natural dietary compounds on cancer development**. Chem. Soc. Rev., London, v.37, p.2558-74, 2008.
- PUBCHEM. **Estruturas monoterpênicas presentes em óleos essenciais de frutos e folhas de *Schinus terebinthifolia***. Disponível: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi>. Acesso : 12ago2017.
- ROVEDA, L.M.; FORMAGIO, A.S.N.; BALDIVIA, D. DA S.; DOS SANTOS, L. A.C; VIEIRA, M. DO; CARDOSO, C. A.L; FOGGIO M.A.; CARVALHO, J.E. DE; FORMAGIO NETO, F. **Composição química e avaliação da atividade antitumoral do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (ANACARDIACEAE)**. 10º Simpósio Brasil- Japão- Sustentabilidade: um desafio da humanidade, **Anais...** Campo Grande- MS, 2010.
- SALES, M.D.C.; ROSA, A. R.; SILVA, A. M. C. S. **A contribuição da etnobotânica para o estudo da gestão social em comunidades tradicionais: o caso da produção da aroeira no norte do estado do Espírito Santo**. Anais do IX ENAPEGS- Porto Alegre (RS), ano 09, p. 1-16, 2016.
- SANTOS, A.C.A. DOS; ROSSATO, M; AGOSTINI, F.; SANTOS, P.L. DOS; SERAFINI, L.A.; MOYNA, P.; DELLACASSA, E. **Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Revista Brasileira de Biotecnologia, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1011-1013, 2007.

SOUZA, D.C.L. **Diversidade genética, produção de frutos e composição química em *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas), Programa de Pós-graduação em Agrossistemas, Universidade Federal de Sergipe (UFS), SE, 2012

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Arned, 2009. 849p.

VELASQUEZ, E.; TOURNIER, H. A.; BUSCHIAZZO, P. M.; SAAVEDRA, G.; SCHINELLA, G. R. **Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts**. *Fitoterapia*, Amsterdam, v. 74, p. 91-7, 2003.

CONTROLE PREVENTIVO DE CANCRO EUROPEU DAS POMÁCEAS EM MUDAS DE MACIEIRA

Rodrigo Luis Boff

Engenheiro Agrônomo. Universidade de Caxias do Sul.

Murilo César dos Santos

Prof. Dr. em Fitopatologia e Coordenador do Curso de Agronomia da Universidade de Caxias do Sul. Área Ciências da Vida. Email: (mcsantos3@ucs.br)

RESUMO: *Neonectria ditissima*, causador do cancro europeu das pomáceas, doença quarentenária ausente (A1), foi relatado e autorizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), na busca de controle efetivo. O objetivo desse ensaio foi o de verificar o efeito preventivo do uso de fungicidas em condições de inoculação. Utilizou-se os tratamentos ditianona 100g/100 L e 130g/100 L, captana 240g/100 L, tiofanato metílico 70g/100 L, calda bordalesa 50g/100 L, oxicloreto de cobre 150g/100 L e 250g/100 L, óxido cuproso 150g/100 L e 250g/100 L, hidróxido de cobre 50g/100 L e 250g/100 L, além da testemunha. Foram realizados dois ensaios, utilizando mudas de 'Gala', inoculadas com discos de papel filtro medindo 0,5 cm diâmetro, a concentrações de $2,94 \times 10^6$ conídios/mL e $4,37 \times 10^5$ conídios/mL, para o primeiro e segundo ensaios, respectivamente, no ponto de abscisão com a retirada prévia ou

não das folhas, aos tratamentos. As plantas foram mantidas em câmara de inoculação por 15 dias, aproximadamente, a uma temperatura de 14 °C, UR > 95% e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período de inoculação, as plantas permaneceram ao relento para manifestação dos sintomas e avaliação da incidência da doença. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Concluiu-se que, para o primeiro ensaio, simulando a pulverização anterior à queda da folha, forma apresentados os melhores resultados com o uso de oxicloreto de cobre (250 g/100L), óxido cuproso (150 e 250 g/100L) e hidróxido de cobre (250 g/100 L). Já para o segundo ensaio, simulando a queda da folha anterior ao tratamento, observou-se que os fungicidas calda bordalesa (50 g/100 L) e oxicloreto de cobre (250 g/100L) foram eficientes no controle da doença. Vale ressaltar que o fungicida oxicloreto de cobre (250 g/100 L) foi eficiente em ambos os ensaios.

PALAVRAS-CHAVE: Fungicidas. *Neonectria ditissima*. *Nectria galligena*. Maçã

PREVENTIVE CONTROL OF EUROPEAN

IN APPLE TREE SEEDLINGS

ABSTRACT: *Neonectria ditissima* - cause of apple canker in European pomaceas - is a quarantine pest (A1) absent in Brazil which has been reported and approved by MAPA (Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply) in search of effective control. This paper intends to investigate the preventive effect of fungicides in inoculation conditions. We used 100g/100 L and 130g/100 L dithianon, 240g/100 L captan, 70g/100 L thiophanate-methyl, 50g/100 L Bordeaux mixture, 150g/100 L and 250g/100 L copper oxychloride, 150g/100 L and 250g/100 L oxide cuprous, 50g/100 L and 250g/100 L copper hydroxide, and also a control. Two experiments were conducted using seedlings of 'Gala', inoculated with discs of filter paper measuring 0.5 cm of diameter, at concentrations of 2.94×10^6 and 4.37×10^5 conidia/ml for the first and second trials, respectively, at the abscission point with or without previous withdrawal of leaves. The plants were kept in inoculation chamber for approximately 15 days, at a temperature of 14 C, RH > 95% and a photoperiod of 12 hours. After this inoculation period, the plants remained in the open for the manifestation of symptoms and assessment of disease incidence. The results obtained were subjected to analysis of variance and means and were compared by Duncan test at a 5% probability. In the first test the use of copper oxychloride (250 g/100L), copper oxide (150 and 250 g/100L) and copper hydroxide (250 g/100 L) showed best results when simulating the spraying previous to leaf fall. As for the second test, simulating leaf fall prior to treatment, we observed that the Bordeaux mixture (50 g/100 L) and copper oxychloride (250 g/100L) were an eficiente way to control the disease. We noticed that copper oxychloride (250 g/100 L) was effective in both trials.

KEYWORDS: Fungicides. *Neonectria ditissima*. *Nectria galligena*. Apple.

1 | INTRODUÇÃO

Conforme MAPA⁽⁹⁾ a produção de maçã está presente em todos os continentes do mundo, tendo uma produção mundial, no ano de 2013, de 67 milhões de toneladas. Segundo Carvalho *et al.*,⁽³⁾ os principais produtores são China, EUA, Polônia, Irã, Turquia e Itália, sendo que 70% da produção se destina ao consumo *in natura* e 30%, para a indústria. Bleicher⁽²⁾ relata que a macieira é uma cultura típica de clima temperado, da família Rosaceae, do gênero *Malus*, com suas origens nas montanhas do Cáucaso, no oriente médio e leste asiático. As variedades mais cultivadas são gala, fuji e suas mutantes.

A maçã é a terceira fruta mais consumida pelas famílias brasileiras, perdendo apenas para a banana e as frutas cítricas. A produção de maçã no Brasil envolve aproximadamente 38 mil hectares plantados. Foram produzidas 1,3 milhões de toneladas da fruta em 2011. A participação brasileira é em torno de 2% do mercado

mundial da maçã, tendo sua produção concentrada na Região Sul, responsável por 98% da produção, de acordo com Carvalho *et al.*⁽³⁾ Os maiores produtores são os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, responsáveis, juntos, por 96% da produção nacional.^(3,6,9)

A Agaponi⁽¹⁾ afirma que, em 2013, o Estado produziu 468.055 toneladas, correspondendo a 45% da produção nacional. O município de Vacaria é responsável por 55% da produção do Estado, com 258.156 toneladas, e o município de Bom Jesus é o segundo maior produtor, com 51.738 toneladas, seguido por Caxias do Sul, com 50.589 toneladas.

O patógeno *Neonectria ditissima* (Sinn. *N. galligena*) é o agente causal do Cancro Europeu das Pomáceas, doença que infecta as macieiras, bem como as pomáceas e algumas outras espécies de plantas silvestres.^(12,18) Esse patógeno causa lesões em ramos, troncos e podridão em frutos.^(17,18,19) No Brasil, essa doença está oficialmente reconhecida como Praga Quarentenária Ausente (A1).^(7,12)

Uma das formas desse fungo é considerada assexuada ou imperfeita. Na primavera e no verão observa-se a fase assexuada, sob a forma de esporodóquios, produzindo conídios, que são os responsáveis pela disseminação.^(11,12,15) A forma sexuada produz ascósporos de cor branca e peritécios, de cor vermelha, formada sob condições, preferencialmente, de chuva com alta umidade relativa no verão e início do outono, que se instala através de ferimentos existentes na casca.^(11,12,15,16,18) Grove⁽⁸⁾ diz que a formação dos peritécios ocorre no outono e seu amadurecimento ocorre no período de inverno e primavera.

O aparecimento dos sintomas da doença consiste em um ligeiro escurecimento da casca com formato aparentemente circular, formando uma espécie de depressão no lenho. O cancro afeta ramos e troncos das plantas, e as mais jovens são as mais suscetíveis, podendo secar e morrer devido ao estrangulamento do tronco principal.^(10,18)

A maioria das lesões se manifesta dentro de um período de três meses a três anos após a infecção.^(10,18) A manifestação da doença é maior dentro de um período de 40 a 70 dias após a infecção, associada à cultivar e à dose de inóculo, porém não é afetada pela temperatura conforme Xiang-Ming Xu e Ridout.⁽¹⁸⁾ Mccracken *et al.*⁽¹⁰⁾ relatam que a planta pode estar contaminada pelo patógeno mesmo que não esteja manifestando sintomas.

Xiang-ming xu e Ridout⁽¹⁸⁾ relatam que, em cortes de poda de ramos velhos, a incidência da doença é aumentada por períodos muito prolongados de umidade e por elevadas doses de inóculo, resultando em maior número de cancos. Em cortes de poda jovens, com alta dose de inóculo, resulta em períodos de incubação curto, bem como na elevada incidência da doença.

Segundo Sanhueza,⁽¹¹⁾ a doença causa destruição de mudas de ano, de ramos novos e de gemas frutíferas. Em pomares afetados, deve-se eliminar os ramos contaminados. Essa prática pode levar à modificação da arquitetura das plantas,

afetando o seu desenvolvimento.

Conforme Grove,⁽⁸⁾ a sobrevivência do fungo ocorre em ramos através do micélio que esporula em condições de umidade elevada, favorecendo a produção de esporódoquios e conídios, sendo esses produzidos em uma matriz gelatinosa e dispersados por respingos de chuva.

A disseminação do fungo ocorre quando os ascósporos são liberados pela chuva e levados pela corrente de ar. Ao caírem sobre alguma lesão, podem germinar e penetrar nos tecidos, causando a infecção e podendo disseminar-se a centenas de metros de distância.^(12,18) A infecção ocorre inicialmente através de contaminação de qualquer tipo de ferimento, causados por quedas de folhas ou por poda.^(7,8,15,18) Esse é o período mais crítico, conforme Swinburne.⁽¹⁵⁾

A temperatura para o bom desenvolvimento da doença varia de 5 a 32 °C, tendo uma faixa ótima entre 11 e 16 °C, com um período mínimo de 6 horas de molhamento foliar,^(5,7,8,15) e agravando-se com período prolongado de molhamento foliar, conforme relatos de Xiang-ming xu e Ridount.⁽¹⁸⁾

Sanhueza⁽¹³⁾ relata que a retirada de ramos infectados diminui a fonte de inóculo quando inicia a queda de folhas, sendo necessário realizar a limpeza dos cancrios, visto que o patógeno coloniza profundamente os ramos e os troncos, podendo alcançar o tecido vascular. Entretanto, Sanhueza⁽¹⁴⁾ diz que a limpeza dos cancrios é realizada com ferramenta de lâmina cortante, realizando a retirada do tecido infectado, até encontrar o tecido sadio.

A proteção no início da queda de folhas pode ser realizada com aplicação de fungicidas cúpricos^(4,13,17) Segundo Sanhueza,⁽¹³⁾ em pomares com baixo risco de infecção, deve-se realizar três aplicações de oxicleto de cobre durante a queda de folhas e, em pomares com alto risco de infecção, deve haver quatro aplicações com tebuconazole, associadas com calda bordalesa ou oxicleto de cobre ou tiofanato metílico, associado com calda bordalesa ou oxicleto de cobre, sendo usados fungicidas cúpricos no estágio de gema inchada.

Tratamentos como dithianona e captana aplicados para o controle da sarna da macieira fazem, nesta fase, o controle dos esporos do patógeno dodine e clorotalonil, e as associações com estrobilurinas ou anilopirimidinas também são eficazes.^(4,13) Entretanto, Sanhueza⁽¹³⁾ diz que captana, associada com estrobilurinas ou anilopirimidinas, no período de floração até a queda de pétalas, são eficientes, e o uso de tiofanato metílico na pré-colheita também é eficiente. Conforme Cooke,⁽⁴⁾ os benzimidazóis e carbendazim têm alguma eficiência para combater a produção de esporos. Segundo Xiang-Ming Xu e Butt,⁽¹⁷⁾ carbendazim, fenpropimorf e procloraz não são eficazes quando aplicados 48 horas após a infecção.

Segundo Cooke,⁽⁴⁾ os tratamentos realizados na primavera e no verão apresentam eficiência de proteção maior do que se realizados somente no período do outono. Tratamentos com dodine em pré-florada e dithianona em pós-florada são mais eficientes do que tratamentos com miclobutanil associado a penconazole no

período de primavera-verão. Um tratamento com maior eficiência é alcançado com benzimidazol se associado com carbendazim.

Conforme Sanhueza,⁽¹³⁾ na proteção de ferimentos, como o da poda, contra *N. ditissima*, podem ser aplicadas pastas à base de cola ou tinta diluídas em água com calda bordalesa, oxiclureto de cobre, sulfato de cobre, clorothalonil, tiofanato metílico, tebuconazole e ou octinolinona.

O objetivo desse ensaio foi o de verificar o efeito preventivo de diversos fungicidas em condições de inoculação em mudas de macieira.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos na Universidade de Caxias do Sul, no Laboratório de Fitopatologia. Foram utilizadas mudas da cultivar Imperial gala, com idade entre 1 a 2 anos, para o primeiro ensaio, e mudas de 1 ano da cultivar gala Brookfield, para o segundo ensaio, ambas acondicionadas em vasos com volume de 5 litros, preenchidos com terra.

A multiplicação do patógeno foi realizada pelo processo de repicagem em meio de cultura BDA (batata dextrose ágar) em placas de Petri, mantidas em BOD com temperatura constante de 24 °C com fotoperíodo de 12 horas, por 15 dias, e posterior acondicionamento em geladeira por mais 7 dias à temperatura de aproximadamente 10 °C.

Para obtenção do inóculo, a superfície do meio de cultura foi lavada com água destilada esterilizada e raspadas com alça de Drigalski. O inóculo obtido foi contado em uma câmara de Neubauer para $2,94 \times 10^6$ e $4,375 \times 10^5$ Unidade Formadora de Colônia (UFC) por mL, para o primeiro e segundo ensaios, respectivamente. A concentração de inóculo foi obtida em duas concentrações diferentes, oriundas de terrem sido obtidas em momentos diferente. Foram utilizados os seguintes tratamentos, com suas respectivas doses de fungicidas sobre as plantas (Tabela 1):

Produto comercial	Ingrediente ativo	Modo de ação	Doses (g ou ml/100 L)
Delan	Ditianona	Contato	100
Delan	Ditianona	Contato	130
Captan	Captana	Contato	240
Cercobin	Tiofanato-metílico	Sistêmico	70
Bordasul	Calda bordalesa	Contato	50
Fanavid	Oxicloreto de cobre	Contato	150
Fanavid	Oxicloreto de cobre	Contato	250
Cobre Atar	Óxido cuproso	Contato	150

Cobre Atar	Óxido cuproso	Contato	250
Garra	Hidróxido de cobre	Contato	50
Garra	Hidróxido de cobre	Contato	250
Testemunha	Testemunha	-----	---

Tabela 1 – Tratamentos utilizados no experimento, produto comercial, ingrediente ativo e doses. Safra 2013/2014. Caxias do Sul, RS

Fonte: elaborado pelos autores.

Os tratamentos foram pulverizados com borrifador manual até o ponto de escorrimento. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com 12 tratamentos e 3 repetições, sendo cada parcela experimental constituída de uma planta envasada.

A inoculação do patógeno, para o primeiro ensaio, ocorreu através de disco de papel filtro, esterilizado, com diâmetro de 0,5 cm, embebido na suspensão do inóculo, posicionado em 5 pontos de abscisão da folha, retirada manualmente, após o tratamento das mudas. A inoculação do segundo ensaio ocorreu de forma similar ao primeiro, porém os tratamentos ocorreram após a retirada manual das folhas. Posteriormente, procedeu-se a inoculação em dez pontos de abscisão da folha.

As plantas foram mantidas em câmara de inoculação por 21 e 10 dias para o primeiro e segundo ensaios, respectivamente, a uma temperatura de 14° C, umidade relativa do ar > 95% e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período de incubação, as plantas foram mantidas ao relento para manifestação dos sintomas.

As avaliações ocorreram em dez momentos, com intervalos de 15 dias, a partir do surgimento dos primeiros sintomas, quando foi avaliada a porcentagem de incidência da doença. Avaliou-se qual foi a porcentagem de incidência da doença em relação à quantidade de inoculações realizadas nas abscisões das plantas. Os dados das avaliações foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan em 5% de probabilidade.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos no primeiro ensaio estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. Conforme os dados apresentados na Tabela 2, pode-se observar que não houve diferenças significativas entre os tratamentos na primeira e na segunda avaliações. Nas terceira, quarta e quinta avaliações, observa-se diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que os tratamentos captana, tiofanato metílico, calda bordalesa, oxicleto de cobre, óxido cuproso e hidróxido de cobre, em doses distintas, diferiram significativamente do tratamento ditianona (100 g/100 L), porém não diferiram da testemunha, embora ainda tenham apresentado as menores médias de incidência da doença.

Tratamentos	1ª Av.	2ª Av.	3ª Av.	4ª Av.	5ª Av.
	19/09/13	04/10/13	18/10/13	10/11/13	29/11/13
Delan 100 g/100 L	24,28 a	31,45 a	39,48 a	39,48 a	39,48 a
Delan 130 g/100 L	24,28 a	24,28 a	24,28 ab	24,28 ab	24,28 ab
Captan 240 g/100 L	12,92 a	12,92 a	12,92 b	12,92 b	12,92 b
Cercobin 70 g/100 L	12,92 a	12,92 a	12,92 b	12,92 b	12,92 b
Bordasul 50 g/100L	5,74 a	12,92 a	12,92 b	12,92 b	12,92 b
Fanavid 150 g/100 L	5,74 a	5,74 a	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Fanavid 250 g/100 L	5,74 a	5,74 a	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Cobre Atar 150 g/100 L	5,74 a	5,74 a	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Cobre Atar 250 g/100 L	5,74 a	5,74 a	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Garra 50 g/100 L	17,10 a	17,10 a	17,10 b	17,10 b	17,10 b
Garra 250 g/100 L	5,74 a	5,74 a	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Testemunha	20,10 a	20,10 a	28,12 ab	28,12 ab	28,12 ab

Tabela 2: Tratamentos, doses comerciais e percentagem de incidência para as cinco primeiras avaliações do primeiro ensaio. Caxias do Sul, RS. Safra 2013/2014

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Dados transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x + 1}$.

Fonte: elaborado pelos autores.

A Tabela 3 mostra diferenças significativas entre os tratamentos, pois os fungicidas oxiclureto de cobre, óxido cuproso, em doses distintas e hidróxido de cobre (250 g/100 L), diferiram das duas doses de ditianona e da testemunha.

Tratamentos	6ª Av.	7ª Av.	8ª Av.	9ª Av.	10ª Av.
	13/12/2013	27/12/2013	10/01/2014	24/01/2014	07/02/2014
Delan 100 g/100 L	35,64 ab	31,46 a	31,46 a	35,64 a	35,64 a
Delan 130 g/100 L	24,28 ab	24,28 ab	24,28 ab	24,28 ab	24,28 ab
Captan 240 g/100 L	12,92 bc	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab
Cercobin 70 g/100 L	12,92 bc	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab
Bordasul 50 g/100L	12,92 bc	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab
Fanavid 150 g/100 L	5,74 c	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab	12,92 ab
Fanavid 250 g/100 L	5,74 c	5,74 b	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Cobre Atar 150 g/100 L	5,74 c	5,74 b	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Cobre Atar 250 g/100 L	5,74 c	5,74 b	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Garra 50 g/100 L	17,10 ab	17,10 ab	17,10 ab	17,10 ab	17,10 ab
Garra 250 g/100 L	5,74 c	5,74 b	5,74 b	5,74 b	5,74 b
Testemunha	32,30 ab	32,30 a	32,30 a	32,30 a	32,30 a

Tabela 3: Tratamentos, doses comerciais e percentagem de incidência para as cinco últimas avaliações do primeiro ensaio. Caxias do Sul, RS. Safra 2013/2014

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Dados transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x + 1}$.

Fonte: elaborado pelos autores.

Os dados obtidos no segundo ensaio estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Conforme a Tabela 4, nota-se que, para as três primeiras avaliações, os tratamentos de captana, tiofanato metílico, calda bordalesa, oxicleto de cobre (250 g/100 L) e hidróxido de cobre (50 g/100 L) diferiram da testemunha, mas não dos demais tratamentos. Para a quarta e quinta avaliações, nota-se que existem diferenças entre os tratamentos, sendo que os tratamentos tiofanato metílico, calda bordalesa, oxicleto de cobre (250 g/100 L) e hidróxido de cobre (50 g/100 L) diferiram significativamente da testemunha, porém somente os tratamentos calda bordalesa e oxicleto de cobre (250 g/100 L) diferiram significativamente dos demais.

Tratamentos	1ª Av.	2ª Av.	3ª Av.	4ª Av.	5ª Av.
	29/11/2013	13/12/2013	27/12/2013	10/01/2014	24/01/2014
Delan 100 g/100 L	22,28 ab	24,28 ab	30,31 ab	30,31 ab	30,31 ab
Delan 130 g/100 L	23,56 ab	28,38 ab	34,92 ab	37,56 ab	39,47 ab
Captan 240 g/100 L	10,28 b	10,28 b	12,92 bc	17,46 ab	17,46 ab
Cercobin 70 g/100 L	10,28 b	10,28 b	12,92 bc	12,92 bc	12,92 c
Bordasul 50 g/100L	5,74 b	5,74 b	5,74 c	5,74 c	5,74 c
Fanavid 150 g/100 L	14,82 ab	14,83 b	14,83 bc	17,46 ab	17,46 ab
Fanavid 250 g/100 L	5,74 b	5,74 b	5,74 c	5,74 c	5,74 c
Cobre Atar 150 g/100 L	17,10 ab	17,10 ab	23,56 ab	25,49 ab	25,49 ab
Cobre Atar 250 g/100 L	5,74 b	12,92 b	26,19 ab	26,19 ab	28,82 ab
Garra 50 g/100 L	5,74 b	10,28 b	14,83 bc	14,83 bc	14,83 bc
Garra 250 g/100 L	14,83 ab	14,83 b	17,46 ab	19,65 ab	19,65 ab
Testemunha	31,65 a	37,55 a	41,40 a	41,40 a	41,40 a

Tabela 4: Tratamentos, doses comerciais e percentagem de incidência para as cinco primeiras avaliações do segundo ensaio. Caxias do Sul, RS. Safra 2013/2014

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Dados transformados em $\arcsin \sqrt{x + 1}$.

Fonte: elaborado pelos autores.

A Tabela 5 mostra que há diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que os fungicidas tiofanato metílico, calda bordalesa, oxicleto de cobre (250 g/100 L) diferiram da testemunha, do fungicida ditianona, óxido cuproso, em duas doses distintas e do hidróxido de cobre (250 g/100 L).

Tratamentos	6ª Av.	7ª Av.	8ª Av.	9ª Av.	10ª Av.
	07/02/2014	21/02/2014	07/03/2014	21/03/2014	04/04/2014
Delan 100 g/100 L	30,31 ab	30,31 ab	30,31 ab	30,31 ab	30,31 ab
Delan 130 g/100 L	39,47 ab	39,47 ab	39,47 ab	39,47 ab	39,47 ab
Captan 240 g/100 L	17,46 ab	17,46 bc	17,46 bc	17,46 bc	17,46 bc
Cercobin 70 g/100 L	12,92 c	12,92 c	12,92 c	12,92 c	12,92 c
Bordasul 50 g/100L	5,74 c	5,74 c	5,74 c	5,74 c	5,74 c
Fanavid 150 g/100 L	17,46 ab	17,46 bc	17,46 bc	17,46 bc	17,46 bc
Fanavid 250 g/100 L	5,74 c	5,74 c	5,74 c	5,74 c	5,74 c
Cobre Atar 150 g/100 L	25,49 ab	25,49 ab	25,49 ab	25,49 ab	25,49 ab

Cobre Atar 250 g/100 L	28,82 ab	28,82 ab	28,82 ab	28,82 ab	28,82 ab
Garra 50 g/100 L	14,83 bc	14,83 bc	14,83 bc	14,83 bc	14,83 bc
Garra 250 g/100 L	19,65 ab	19,65 ab	19,65 ab	19,65 ab	19,65 ab
Testemunha	41,40 a	43,42 ab	43,42 ab	43,42 ab	43,42 ab

Tabela 5: Tratamentos, doses comerciais e percentagem de incidência para as cinco últimas avaliações do segundo ensaio. Caxias do Sul, RS. Safra 2013/2014

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Dados transformados em arc sen .

Fonte: elaborado pelos autores.

De acordo com Dubin e English,⁽⁵⁾ as inoculações realizadas após a retirada da folha manualmente e inoculadas em concentrações de 5×10^3 , em 10 pontos distintos por planta, demonstrou que as infecções foram irregulares no aparecimento das lesões. O mesmo ocorreu em ambos ensaios, pois várias inoculações não manifestaram sintomas, mesmo utilizando concentrações superiores a 10^5 Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

Os pontos de abscisão das folhas tornam-se altamente resistentes à infecção após 48 horas da queda da folha, e apenas 5% desses pontos são susceptíveis à infecção após 10 dias da retirada da folha. Assim sendo, é extremamente importante a proteção desses pontos durante o período de queda de folhas, pois a manifestação dos sintomas ocorrerá somente na primavera, segundo Dubin e English,⁽⁵⁾ conforme obtido no ensaio e relatado por Mccracken *et al.*,⁽¹⁰⁾ onde as plantas podem estar infectadas sem o desenvolvimento de sintomas.

O uso de cobre e os metais pesados, como o mercúrio, são os mais eficientes contra o cancro, aplicados no início da queda de folhas. Cobre ou fungicidas à base de mercúrio, como calda bordalesa, oxicloreto de cobre, cloreto de mercúrio enitrato de mercúrio, se aplicados no início da queda de folhas, promovem proteção máxima para as cicatrizes folhares recentemente expostas. Benomil aplicado na queda de folhas também é eficaz. A aplicação de benomil, de pyridinitril e de carbendazil diminui a esporulação em todo o ano. Ditianona não tem nenhum efeito sobre esporulação, mas age bem como protetor.^(4,15)

Conforme Cooke,⁽⁴⁾ as aplicações de fungicidas na primavera-verão produziram maior redução no número de cancos em relação às aplicações realizadas no outono. Oxicloreto de cobre teve controle razoável, quando aplicado no outono, porém os dados obtidos revelaram que os fungicidas cúpricos apresentaram os melhores resultados, sendo que oxicloreto de cobre, em dose para “limpeza de pomar” (250 g/100 L) foi eficiente no controle da doença.

Segundo Cooke,⁽⁴⁾ dodine aplicado em pré-florada e ditianona, pós-florada, têm menor tendência de desenvolver cancro do que tratamentos aplicados em primavera-verão com miclobutanil e penconazole, porém menor número de cancos surgiram quando pulverizados benzimidazol e carbendazim na primavera-verão. As aplicações

de ditianona em primavera-verão reduziu o cancro em 75%. Os ensaios revelaram que ditianona, em condições de inoculação, não foram eficientes no controle da doença.

Os ensaios realizados revelaram que os fungicidas cúpricos foram eficientes em ambos ensaios. Para o primeiro ensaio, simulou-se a pulverização anterior a queda da folha, que apresentou os melhores resultados com o uso de oxicloreto de cobre (250 g/100L), óxido cuproso (150 e 250 g/100L) e hidróxido de cobre (250 g/100 L). Já para o segundo ensaio, com a simulação da queda da folha anterior ao tratamento, observou-se que os fungicidas calda bordalesa (50 g/100 L) e oxicloreto de cobre (250 g/100L) foram eficientes no controle da doença. Vale ressaltar que o fungicida oxicloreto de cobre (250 g/100 L) foi eficiente em ambos os ensaios.

AGRADECIMENTOS

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e a Universidade de Caxias do Sul.

REFERÊNCIAS

1. AGAPOMI. **Produção de maçã no Rio Grande do Sul – safra 2012/2013**. Vacaria, 2013. Disponível em: http://www.agapomi.com.br/arquivos/safra_2013.pd. Acesso em: 23 maio 2014.
2. BLEICHER, J. História da macieira. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/EPAGRI, 2006. p. 29-36.
3. CARVALHO, V. R. F.; LOPES, L. U.; HORN, C. H. **Cadeia produtiva da maçã no Brasil: limitações e potencialidades**. Porto Alegre: BRDE, 2011. 44 p.
4. COOKE, L. R. The influence of fungicide sprays on infection of apple cv. Bramley's seedling by *Nectria galligena*. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, n. 105, p. 783-790, 1999.
5. DUBIN, H. J.; ENGLISH, H. Factors Affecting Apple Leaf Scar Infection by *Nectria galligena* Conidia. **Phytopathology**, v. 64, p. 1201-1203, 1974.
6. FIORAVANÇO, J. C. *et al.* **Cultura da macieira no Rio Grande do Sul: análise situacional e descrição varietal**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. p. 17. (Embrapa Uva e Vinho. Documento, 71).
7. GRASSELLI, V.; LONDERO, A. **Cancro europeu das pomáceas (*Neonectria galligena*)**. Informativo técnico. Governo do Estado do Rio Grande do Sul, n. 9, ano 3, 2012.
8. GROVE, G. G. Nectria Canker. In: JONES, A. L.; ALDWINCKLE, H.S. **Compendium of Apple and Pear Diseases**. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1990. p. 35-36.
9. MAPA. **Cenário da cadeia produtiva da maçã**. Informativo 54. Ano 6, n. 54, 2013.
10. MCCRACKEN, A. R. *et al.* Relative significance of nursery infections and orchard inoculum in the development and spread of apple canker (*Nectria galligena*) in young orchards. **Plant Pathology**, n. 52, p. 553-566, 2003.

11. SANHUEZA, R. M. V. **Cancro Europeu das pomáceas (*Nectria galligena*)**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1998. 16 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnico, 23).
12. SANHUEZA, R. M. V.; BONETI, J. I. S.; ALVES, S. A. M. **Cancro Europeu das pomáceas (*Nectria galligena* = *Neonectria galligena*)**. Informe fitossanitário. Florianópolis: Epagri, 2012.
13. SANHUEZA, R. M. V. Cancro europeu: estratégias de controle. *In*: Encontro nacional sobre fruticultura de clima temperado, 1, 2013. Fraiburgo. **Anais...** Caçador: Epagri, 2013. p.123-130.
14. SANHUEZA, R. M. V. **Proteção dos cortes de poda e tratamento dos cancrios por *Neonectria galligena*: resultados parciais**. Jornal da Associação Gaúcha de Produtores de Maçã, AGAPOMI, Vacaria, 228. ed. p. 03, maio 2013.
15. SWINBURNE, T. R. European canker of apple. **Review of Plant Pathology**. v. 54, n. 10, p. 787-799, 1975.
16. TALGO, V.; BRURBERG, M. B.; STENSVAND, A. *Neonectria*: canker on trees in Norway. **Journal of Agricultural Extension and Rural Development**, v. 4, n. 9, p. 252-255, 2012.
17. XIANG-MING XU, D. J. B.; BUTT, J. D. Test of fungicides for post-germination activity against *Nectria galligena*, causal agente of canker and fruit rot of apple. **Crop Protection**, Great Britain, v. 15, n. 6, p. 513-519, 1996.
18. XIANG-MING XU, D. J. B.; RIDOUT, M. S. The effects of inoculum dose, duration of wet period, temperature and wound age on infection by *Nectria galligena* of pruning wounds on apple. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, n. 104, p. 511-519, 1998.
19. XIANG-MING XU, D. J. B.; ROBINSON, J. D. Effects of fruit maturity and wetness on the infection of apple fruit by *Nectria galligena*. **Plant Pathology**, p. 1-6, 2010.

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Eugenia uniflora* L. EM DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO

Lidiane Diniz do Nascimento

Universidade Federal do Pará, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia. Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica.
Belém – Pará.

Márcia Moraes Cascaes

Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica.
Belém – Pará.

Luís Henrique Araújo Oliveira

Universidade Federal do Pará, Programa Jovens Talentos Para a Ciência (JTC/CAPES).
Belém – Pará.

Eloisa Helena de Aguiar Andrade

Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica. Universidade Federal do Pará, Programa de Pós Graduação em Química.
Belém – Pará.

RESUMO: A família Myrtaceae está representada por 132 gêneros e 5671 espécies e tem como centros de diversidade os trópicos úmidos, especialmente na América do Sul, Austrália e Ásia Tropical. Este trabalho avaliou o rendimento e a composição química do óleo essencial das folhas secas de *Eugenia uniflora* em diferentes tempos de extração pelo método de hidrodestilação. O material botânico foi coletado no campus do Museu Emílio Goeldi,

Belém, Pará, nos meses de janeiro e setembro às 08h. As amostras (triplicatas) foram submetidas à hidrodestilação em sistemas de vidro do tipo Clevenger original durante 1, 2, 3 e 4 horas. Os óleos essenciais foram analisados através de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) em sistema Shimadzu QP-2010 Plus equipado com coluna capilar RTX-5MS (30 m × 0,25 mm; 0,25 µm de espessura de filme). O aumento do rendimento do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* foi proporcional ao incremento no tempo de extração, tanto para o material coletado em setembro (1,1 a 2,3%) quanto em janeiro (1,4 a 3%). Os constituintes químicos majoritários do óleo essencial das folhas secas de *E. uniflora* mostraram variações percentuais em função do tempo de extração, principalmente os que caracterizam o tipo químico da espécie: selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona. As maiores concentrações de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e γ-elemeno foram observadas no mês de setembro (43,3 ± 2,7%), enquanto a maior concentração de (*E*)-cariofileno se deu no mês de janeiro (6,4 ± 0,1%).

PALAVRAS-CHAVE:

hidrodestilação, sazonalidade.

Myrtaceae,

YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF

THE ESSENTIAL OIL FROM LEAVES OF *Eugenia uniflora* L. IN DIFFERENT EXTRACTION TIMES

ABSTRACT: Myrtaceae family is represented by 132 genera and 5671 species and has as centers of diversity the humid tropics, especially in South America, Australia and Tropical Asia. This work evaluated the yield and chemical composition of the essential oil of *Eugenia uniflora* leaves at different extraction times by the hydrodistillation method. The botanical material was collected on the Campus of the Emílio Goeldi Museum, Belém, Pará, in the months of January and September at 8h. The samples (triplicate) were submitted to hydrodistillation using original Clevenger type for 1, 2, 3 and 4 hours. The essential oils were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) in Shimadzu QP-2010 Plus system equipped with capillary column RTX-5m(30 m × 0.25 mm; 0.25 µm film thickness). The increase in the essential oil yield of *E. Uniflora* leaves was proportional to the increment in the extraction time, both for the material collected in September (1.1 to 2.3%) as in January (1.4 to 3%). The major chemical constituents of the essential oil of the dry leaves of *E. Uniflora* showed percentage variations as a function of the extraction time, especially those that characterize the chemical type of the species: Selina-1, 3, 7 (11)-Trien-8-one and epoxide of Selina-1, 3, 7 (11)-Trien-8-one. The highest concentrations of Selina-1, 3, 7 (11)-Trien-8-one, Selina-1, 3, 7 (11)-Trien-8-one and γ-elemene epoxide were observed in September (43.3 ± 2.7%), while the highest concentration of (E)-caryophyllene occurred in the month of January (6.4 ± 0.1%).

KEYWORDS: Myrtaceae, hydrodistillation, seasonality.

1 | INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae está representada por 132 gêneros e 5.671 espécies e tem como centros de diversidade os trópicos úmidos, especialmente na América do Sul, Austrália e Ásia Tropical (GOVAERTS et al., 2015). O levantamento mais recente para o Brasil lista 23 gêneros e 1030 (FLORA DO BRASIL, 2019). No Brasil, todos os representantes nativos pertencem à subfamília Myrtoideae, constituída de apenas uma tribo, Myrteae, por sua vez dividida em três subtribos: Eugeniina, Myrciinae e Myrtinae (BARROSO, 1991).

O gênero *Eugenia* pertence à subtribo Myrciinae e é um dos maiores gêneros americanos de Myrtaceae, com mais de 300 espécies distribuídas do México até o sul do Brasil. *Eugenia* destaca-se pela exploração comercial dos frutos comestíveis, madeira, plantas ornamentais, além dos óleos essenciais (GOVAERTS, R. et al., 2015, CAVALCANTE, 2010, SIANI, A. et al., 2000). *Eugenia uniflora* L. [e seus sinônimos botânicos *Eugenia michelii* Lam.; *Luma dasyblasta* (O.Berg) Herter; *Myrtus brasiliiana* L.; *Plinia rubra* L.; *Stenocalyx michelli* (Lam.) O. Berg] é uma árvore perene de porte arbustivo, cuja altura varia de 1,5 m a 8 m, com flores pequenas de cor branca, solitárias ou agrupadas, nascidas nas axilas das folhas. O fruto é uma baga oblata e achatada de

cálice persistente, casca lisa e brilhosa, com tons que variam do amarelo-alaranjado ao vermelho escarlate (COSTA, 2009) e gomos suculentos de sabor agridoce, muito apreciado ao natural ou em forma de doces e licores (CAVALCANTE, 2010).

O uso da medicina popular dessa espécie está relacionado principalmente ao tratamento de diarreias, bronquites, febres, tosses e hipertensão arterial (sítio 1). A infusão das folhas de *E. uniflora* é usada popularmente no tratamento afecções bucais e possui propriedades adstringentes, analgésicas e antiberibéricas. Sua utilização também é observada na indústria brasileira de cosméticos para o desenvolvimento de xampus, condicionadores de cabelo, sabões de rosto e de banho e perfumes (FRANZÃO & MELO, 2019).

Diferentes tipos químicos de óleos essenciais de *E. uniflora* são descritos na literatura, um espécime coletado em Belém, Pará apresentou germacrona (32,8%), curzereno (30,0%) e germacreno B (15,6%) como constituintes majoritários (MAIA et al., 1999); curzereno foi o constituinte principal de espécimes estudados em Uberlândia, Minas Gerais com 81,0% (CHANG et al., 2011), e cerca de 50% no Rio de Janeiro (MELO et al., 2007); selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona foram os constituintes com maiores percentuais em espécimes estudados em Goiás (COSTA et al., 2009), no Ceará (MORAIS et al., 1996, DOS SANTOS et al., 2018), São Paulo (GALLUCCI et al., 2010) e Rio de Janeiro (MARQUES et al., 2018).

O extrato etanólico de *E. uniflora* demonstrou potencial antioxidante o que pode ser atribuído, pelo menos em parte, a sua ação terapêutica na medicina popular (DA CUNHA et al., 2016). O extrato etanólico de *E. uniflora* foi utilizado para avaliar atividade anti-epimastigota e citotóxica in vitro contra o patógeno causador da doença de Chagas, os resultados indicaram que *E. uniflora* pode ser uma fonte de produtos naturais derivados de plantas com atividade anti-*Trypanosoma* e baixa toxicidade (SANTOS et al., 2012). O óleo essencial de *E. uniflora* tem sido descrito na literatura como possuidor de potencial antifúngico, os efeitos foram avaliados contra *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis* (SANTOS et al., 2018). Figueiredo et al. (2019), avaliaram as atividades antioxidantes e citotóxicas do óleo essencial de espécimes de *E. uniflora* coletado no Pará e constataram significativas atividades para os diferentes quimiotipos encontrados (curzereno + germacreno B; selina-1,3,7(11)-trien-8-ona + epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona; selina-1,3,7(11)-trien-8-ona + epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona + óxido de cariofileno). O estudo realizado por Sobeh et al. (2016) descreveu atividade antibacteriana moderada para o óleo essencial (α -copaeno + espatulenol + óxido de cariofileno) desta espécie frente à seis bactérias Gram-positivas e três Gram-negativas. O efeito modulatório do óleo essencial de *E. uniflora* foi analisado contra antibióticos, evidenciando-se que o mesmo interfere na ação de antibióticos causando alterações na atividade biológica (PEREIRA et al., 2017).

Levando-se em consideração as propriedades associadas aos constituintes voláteis de *E. uniflora* este trabalho avalia a influência do tempo de extração no

rendimento e composição química do óleo essencial das folhas desta espécie coletadas em setembro de 2015 e janeiro de 2016, verão e inverno amazônico, respectivamente.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e identificação taxonômica

Folhas de *Eugenia uniflora* (Figura 1) foram coletadas no Campus do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, nos meses de setembro (2015) e janeiro (2016) às 8h. A identificação botânica baseou-se no método clássico da morfologia comparada, utilizando-se espécimes herborizados, material fresco e bibliografia especializada. Uma amostra botânica foi incorporada à coleção do Herbário João Murça Pires (MG:227358) da Coordenação de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi.



Figura 1 – Espécime de *Eugenia uniflora* coletado no Campus do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará.

2.2 Processamento do material coletado

As folhas foram secas sobre telas em sala climatizada com ar condicionado e desumidificador de ar durante cinco dias, moídas, homogeneizadas, pesadas e submetidas à hidrodestilação.

2.3 Extração do óleo essencial

As amostras (20g) foram submetidas à hidrodestilação em sistemas de vidro do tipo Clevenger original durante 1, 2, 3 e 4 horas. Foram utilizadas mantas de

aquecimento para balões de 1 L cada, acopladas a um sistema de refrigeração para manutenção da água de condensação em torno de 10–15°C. Após as extrações, os óleos obtidos foram centrifugados durante 5 min, desidratados com sulfato de sódio anidro, armazenados e acondicionados em geladeira a 5°C. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata.

2.4 Determinação do teor de umidade e cálculo do rendimento do óleo essencial

A porcentagem de água presente nas amostras foi quantificada em um determinador de umidade Marte® modelo ID50 com fonte de calor infravermelho produzido por resistência encapsulada em quartzo.

O rendimento de óleo essencial com base na amostra livre de umidade foi calculado utilizando-se a seguinte equação (SANTOS et al., 2004), na qual $T_{\text{óleo}}$ é o teor de óleo (mL/100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%); $V_{\text{óleo}}$ é o volume de óleo extraído (mL); B_m é a biomassa vegetal (g) e U é o teor de umidade (%).

$$T_{\text{óleo}} = \frac{V_{\text{óleo}}}{B_m - \frac{B_m \times U}{100}} \times 100$$

2.5 Análise da composição química

Os óleos essenciais foram analisados através de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) em sistema Shimadzu QP-2010 Plus equipado com coluna capilar RTx-5MS (30 m × 0,25 mm; 0,25 μm de espessura de filme) nas seguintes condições operacionais: gás de arraste: hélio, em velocidade linear de 36,5 cm/s; tipo de injeção: sem divisão de fluxo (1 μL de uma solução de 2 μL de óleo em 1 mL de hexano); temperatura do injetor: 250°C; programa de temperatura do forno: 60–250°C (3°C/min); EM: impacto eletrônico, 70 eV; temperatura da fonte de íons e partes de conexão: 220°C. A identificação química foi realizada através da comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os de substâncias padrão existentes nas bibliotecas do sistema e com dados da literatura (ADAMS, 2007). Os IRs foram obtidos utilizando a série homóloga dos *n*-alcanos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta o rendimento do óleo essencial de *E. uniflora* em função do tempo de extração nos meses de setembro de 2015 e janeiro de 2016 (verão e inverno amazônico, respectivamente). Por meio da Figura 2 é possível observar que o

aumento do rendimento do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* é proporcional ao incremento no tempo de extração, tanto para o material coletado em setembro quanto em janeiro. Além disso, o rendimento registrado no inverno amazônico foi superior, o que pode estar associado à maior frequência e intensidade das chuvas nesse período.

Biomassa (g)	Tempo de extração (h)	Setembro (2015)		Janeiro (2016)			
		Umidade (%)	Volume de óleo (mL)	Teor de óleo (%)	Umidade (%)	Volume de óleo (mL)	Teor de óleo (%)
20	1		0,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0		0,3 ± 0,0	1,4 ± 0,0
	2	13,02 ± 0,0	0,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0	13,28 ± 0,00	0,3 ± 0,0	1,7 ± 0,0
	3		0,3 ± 0,0	1,7 ± 0,0		0,3 ± 0,0	2,0 ± 0,0
	4		0,4 ± 0,0	2,3 ± 0,0		0,5 ± 0,0	3,0 ± 0,2

Tabela 1 – Rendimento do óleo essencial de *E. uniflora* em função do tempo de extração e período de coleta.

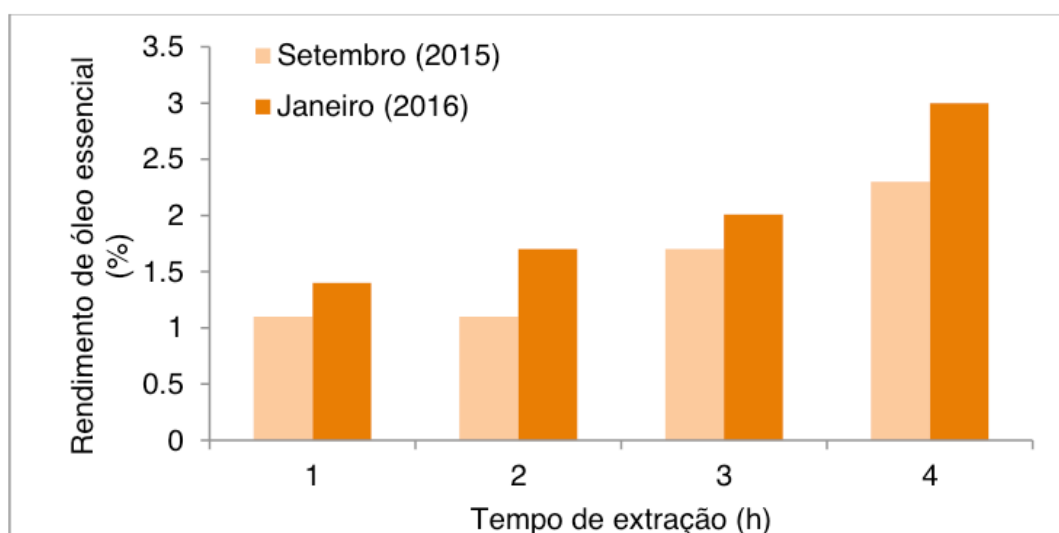


Figura 2 – Variação sazonal do teor de óleo essencial em função do tempo de extração.

A sazonalidade, ritmo circadiano e fatores ambientais como incidência solar, pluviosidade e localização podem influenciar no rendimento e composição química dos óleos essenciais, visto que estes são metabólitos secundários produzidos pelas plantas (RAPOSO et al., 2018; RIBEIRO et al., 2018; GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Os constituintes químicos identificados (maior que 1%) no óleo essencial das folhas de *E. uniflora* e seus respectivos índice de retenção (IR) estão listados na Tabela 2.

IR	Constituintes	Setembro (2015)				Janeiro (2016)			
		1h	2h	3h	4h	1h	2h	3h	4h
1044	(E)-β-Ocimeno	1,1 ± 0,3	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,4	0,6 ± 0,1	1,5 ± 0,0	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2
1335	δ-Elemeno	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,3	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,2	3,0 ± 0,1	3,1 ± 0,2	3,1 ± 0,0	2,6 ± 0,3

1389	β -Elemeno	2,7 \pm 0,3	3,5 \pm 0,4	3,7 \pm 0,1	3,8 \pm 0,2	4,4 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	4,1 \pm 0,4
1177	(E)-Cariofileno	3,6 \pm 0,4	5,4 \pm 0,6	5,8 \pm 0,2	6,0 \pm 0,2	5,5 \pm 0,2	6,3 \pm 0,2	6,4 \pm 0,1	6,0 \pm 0,2
1434	γ -Elemeno	7,4 \pm 0,5	9,7 \pm 0,7	10,6 \pm 0,4	10,6 \pm 0,2	7,9 \pm 0,2	8,3 \pm 0,2	8,6 \pm 0,1	7,8 \pm 0,3
1452	α -Humuleno	0,2 \pm 0,0	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,0	0,5 \pm 0,1	0,9 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	0,9 \pm 0,1
1484	Germacreno-D	0,9 \pm 0,1	1,5 \pm 0,2	1,5 \pm 0,0	1,6 \pm 0,2	2,3 \pm 0,1	2,4 \pm 0,0	2,6 \pm 0,0	2,2 \pm 0,2
1500	Biciclogermacreno	1,7 \pm 0,2	2,6 \pm 0,3	2,6 \pm 0,1	2,8 \pm 0,3	3,5 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1
1582	Óxido de cariofileno	0,1 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	0,9 \pm 0,2	1,1 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2	0,7 \pm 0,2	0,9 \pm 0,0
1632	Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	43,3 \pm 2,7	21,8 \pm 2,9	33,1 \pm 1,2	31,9 \pm 3,0	24,1 \pm 0,2	20,5 \pm 0,3	20,9 \pm 0,2	20,4 \pm 0,9
1658	Selin-11-en-4- α -ol	0,5 \pm 0,5	1,4 \pm 0,1	-	0,9 \pm 0,8	0,4 \pm 0,7	0,8 \pm 0,9	0,8 \pm 0,8	1,4 \pm 1,2
1746	Epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	27,6 \pm 1,5	21,8 \pm 4,7	22,8 \pm 3,1	23,2 \pm 2,7	16,4 \pm 0,5	15,7 \pm 0,4	16,3 \pm 0,3	15,4 \pm 0,5

Tabela 2 – Composição química ($\geq 1,0\%$) do óleo essencial de *E. uniflora* em função do tempo de extração e período de coleta.

A composição química foi predominantemente caracterizada pelos sesquiterpenos oxigenados selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e pelos sesquiterpenos não oxigenados (E)-cariofileno e γ -elemeno (Figura 3). Na Figura 4 é mostrada a variação sazonal destes constituintes majoritários durante os dois períodos de coleta (setembro de 2015 e janeiro de 2016) e tempo de extração. Para selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, a maior produção é durante a primeira hora de extração do mês de setembro (43,3 \pm 2,7%) e os menores percentuais foram quantificados a partir da segunda hora de extração em janeiro. Comportamento semelhante é apresentado pelo epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, com teor máximo na primeira hora de extração em setembro (27,6 \pm 1,5%) e menor teor na última hora de extração de janeiro. γ -elemeno alcança os maiores percentuais a partir de 3h de extração em setembro (10,6 \pm 0,4%) e menor percentual na primeira hora de extração de setembro (7,4 \pm 0,5%). Os maiores teores de (E)-cariofileno foram obtidos a partir de 4h de extração em setembro (6,0 \pm 0,2%) e nas últimas 3h de extração de janeiro (uma média de 6,2 \pm 0,2%).

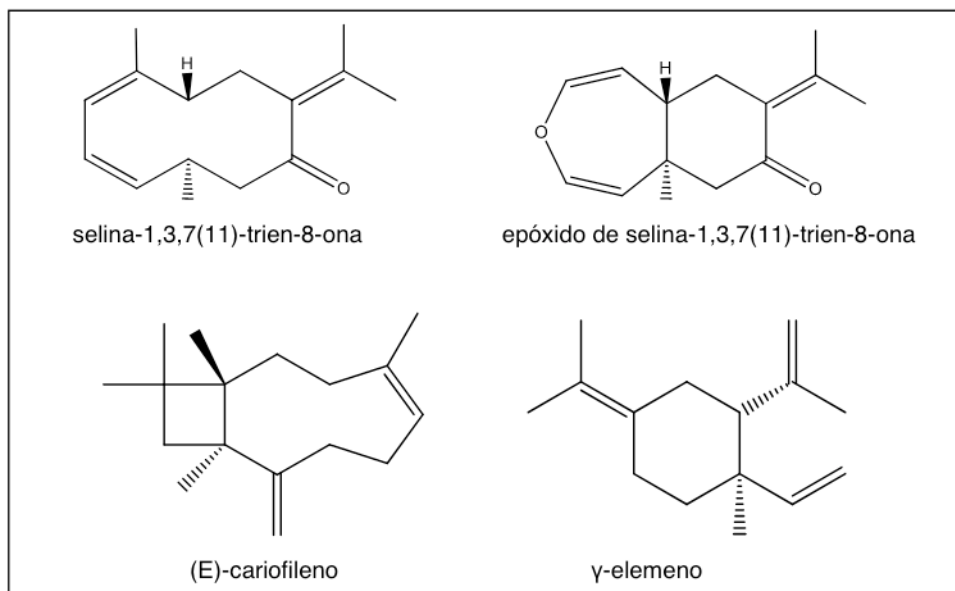


Figura 3 - Constituintes majoritários identificados nos óleos essenciais de *Eugenia uniflora*.

A variação mais evidente foi observada no intervalo inicial entre a primeira e segunda hora de extração no mês de setembro, onde o percentual de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona cai de $43,3 \pm 2,7\%$ para $21,8 \pm 2,9\%$, o que representa uma queda percentual de aproximadamente 50%; tal comportamento não foi observado em nenhum outro constituinte majoritário.

A influência do tempo de extração tem mostrado efeitos significativos na composição e rendimento do óleo essencial. Zheljzakov et al. (2013) avaliaram o impacto de diferentes tempos de extração no rendimento e composição química do óleo essencial de *Lavandula angustifolia* e observaram que o maior rendimento foi alcançado com 60 min de extração e que alterando o tempo de destilação foi possível obter óleos essenciais com diferentes perfis químicos. Harsal et al. (2018) acompanharam a extração do óleo essencial de *Origanum elongatum* por meio da técnica de hidrodestilação e determinaram o maior rendimento após 140 min de extração. A composição química também variou em função do tempo de extração e a atividade antibacteriana testada diante *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* mostrou as maiores atividades quando as frações extraídas nos intervalos entre 80 a 160 min foram utilizadas.

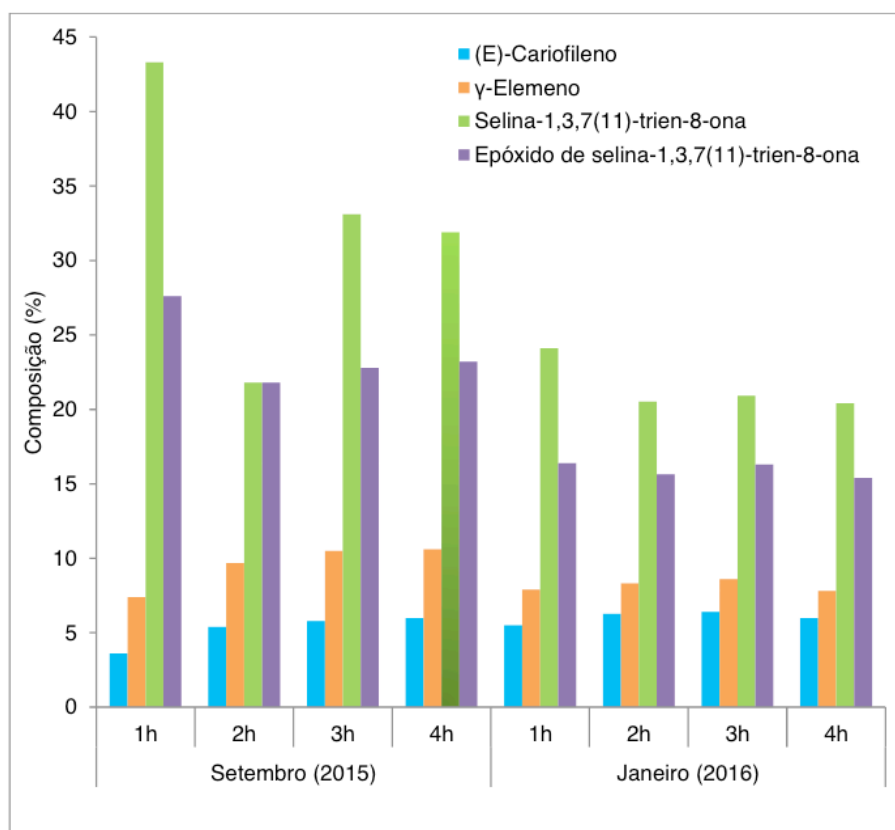


Figura 4 – Variação sazonal dos constituintes majoritários ($\geq 5,0\%$) identificados no óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* em função do tempo de extração.

4 | CONCLUSÃO

O maior teor de óleo essencial foi observado durante o mês de janeiro de 2016, durante o período chuvoso. Os teores observados sugerem fortemente uma estreita correlação com o regime pluviométrico da região.

Os constituintes químicos majoritários do óleo essencial das folhas secas de *E. uniflora* mostraram variações percentuais em função do tempo de extração, principalmente os que caracterizam o tipo químico da espécie: selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona. As maiores concentrações de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e γ -elemeno foram observadas no mês de setembro de 2015, enquanto a maior concentração de (E)-cariofileno se deu no mês de janeiro de 2016.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, Illinois, USA: **Allured Publishing Corporation**, 2007.

BARROSO, G. M. Sistemática de angiospermas do Brasil. Viçosa: **Editora UFV**, 1991. v. 2.

CAVALCANTE, P. B. Frutas comestíveis da Amazônia. 7. ed. Belém, Pará: **MPEG**/ 2010.

CHANG, R. et al. A new approach for quantifying furanodiene and curzerene. A case study on the essential oil of *Eugenia uniflora* (pitangueira) leaves. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 21, n. 3, p. 392-396, 2011.

COSTA, D.P. et al. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of Brazilian Chemical Society**, Vol. 20, No. 7, p.1287-1293, 2009.

COSTA, D. P. Influência do biótipo de cor de fruto e da sazonalidade no óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora*. 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado em Química) — Instituto de Química, **Universidade Federal de Goiás**, Goiás.

DA CUNHA, F. A. B. et al. Cytotoxic and antioxidative potentials of ethanolic extract of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) leaves on human blood cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, 614-621, 2016.

FIGUEIREDO, P. L. B. et al. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 232, p. 30-38, 2019.

FLORA DO BRASIL. **Myrtaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 24 Jun. 2019.

FRANZÃO, A. A.; MELO, B. **Cultura da pitangueira**. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/pitangueira.html>>. Acesso em: 24 de junho de 2019.

GALLUCCI, S. Et al. Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: an industrial perfumery approach. **Journal of Essential Oil Research**, 22, p. 176-179, 2010.

GOBBO-NETO, L; LOPES, NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, Vol. 30, No. 2, p. 374-381, 2007.

GOVAERTS, R. et al. **World check list of Myrtaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens. Disponível em:<<http://www.kew.org/wcsp/>>.Acesso em: 21 ago 2015.

HARSAL, A. E. Influence of Extraction Time on the Yield, Chemical Composition, and Antibacterial Activity of the Essential Oil from *Origanum elongatum* (E. & M.) Harvested at Northern Morocco. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**. V.21, issue 6, p. 1460 – 1474, 2018.

MAIA, J.G.S. et al. A new chemotype of *Eugenia uniflora* L., from North Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v 11, 727-729, 1999.

MORAIS, S.M. et al. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from Northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v.8, p. 449-451, 1996.

MARQUES, A.M. et al. Isolation of two major sesquiterpenes from the leaf essential oil of *Eugenia uniflora* by preparative-scale high-speed countercurrent chromatography. **Separation Science Plus**, p. 1-8, 2018.

MELO, R.M. et al. Identification of Impact Aroma Compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) Leaf Essential Oil. **Journal of Brazilian Chemical Society**, Vol. 18, No. 1, p.179-183, 2007.

PEREIRA, N. L. F. et al. In vitro evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with led lights. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, p. 512-518, 2017.

- RAPOSO, J. D.A. et al. Seasonal and circadian study of the essential oil of *Myrcia sylvatica* (G. Mey) DC., a valuable aromatic species occurring in the Lower Amazon River region. **Biochemical Systematics and Ecology**. V. 79, p. 219-29. 2018.
- RIBEIRO, S.M. et al. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia Série Botânica**, Porto Alegre, V. 73, issue 1, p 31-38, 2018.
- 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: Embrapa Amazônia Oriental, 2004 (Embrapa Amazônia Oriental. **Comunicado Técnico**, 99).
- SANTOS, J. F. S. et al. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp, **Food chemistry**, v. 261, p. 233-239, 2018.
- SANTOS, K. A. et al Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. **Experimental Parasitology**, v. 131, p. 130-132, 2012.
- SIANI, A. et al. Óleos essenciais: **potencial anti-inflameterio**, Biotecnologia: Ciências e desenvolvimento, v. 16, p. 38-46, 2000.
- SOBEH, M. et al. Chemical profiling of the essential oils of *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* and *Eugenia uniflora* and their discrimination using chemometric analysis. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, p. 1537-1550. 2016.
- ZHELJAZKOV, V.D. et al. Distillation time effect on Lavander essential oil yield and composition. **Journal of Oleo Science**. V. 62, issue 4, p. 195-199, 2013.

SOBRE O ORGANIZADOR

CLEBERTON CORREIA SANTOS Graduado em Tecnologia em Agroecologia, mestre e doutor em Agronomia (Produção Vegetal). Tem experiência nas seguintes áreas: agricultura familiar, indicadores de sustentabilidade de agroecossistemas, uso e manejo de resíduos orgânicos, produção de mudas, manejo e tratamentos culturais em horticultura geral, plantas medicinais, aromáticas e condimentares exóticas e nativas, respostas morfofisiológicas de plantas ao estresse ambiental, nutrição de plantas, planejamento e análises de experimentos agropecuários. (E-mail: cleber_frs@yahoo.com.br) – ORCID: 0000-0001-6741-2622

ÍNDICE REMISSIVO

A

Alelopatia 5, 14, 16, 18, 24

Anacardiaceae 25, 26, 34, 35

B

Biocontrole 13

Bioensaios 14, 16, 17, 18, 19

C

Controle Preventivo 6, 37

E

Ervas Daninhas 13, 14, 18

Extrato Etanólico 50

F

Fitopatologia 37, 41

Fungicidas 37, 40, 41, 43, 44, 45, 46

L

Lamiaceae 6, 13, 16, 21

Leveduras 2

M

Macieiras 39

Medicina Popular 5, 50

Myrtaceae 48, 49, 57

O

Óleos Essenciais 1, 2, 13, 14, 16, 25, 28, 29, 31, 33, 34, 35, 48, 49, 50, 52, 53, 55, 58

P

Panificação 2

Propriedades Biológicas 2

T

Tempo de Extração 28, 48, 50, 52, 53, 54, 55, 56

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-662-1

