

CINTIA HOFFER DA ROCHA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *PSIDIUM CATTLEIANUM* E SEU EFEITO NA SANIDADE DE SEMENTES DE *PHASEOLUS VULGARIS*

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientadora: Dr^a. Mari Inês Carissimi Boff

LAGES

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Rocha, Cintia

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
DE PSIDIUM CATTLEIANUM E SEU EFEITO NA SANIDADE
DE SEMENTES DE PHASEOLUS VULGARIS / Cintia Rocha. --
2019.

113 p.

Orientadora: Mari Inês Carissimi Boff
Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação
em Produção Vegetal, Lages, 2019.

1. Óleos Essenciais. 2. Psidium cattleianum. I. Carissimi Boff,
Mari Inês . II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal. III. Título.

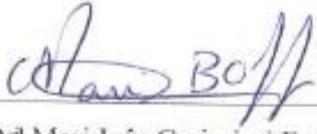
CINTIA HOFFER DA ROCHA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *PSIDIUM CATTLEIANUM* E SEU EFEITO NA SANIDADE DE SEMENTES DE *PHASEOLUS VULGARIS*

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Banca Examinadora

Orientadora:


Drª Mari Inês Carissimi Boff

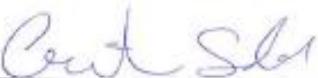
UDESC/Lages, SC

Membro:


Profa. Drª. Lenita Agostinetto

UNIPLAC, SC

Membro:


Prof. Dr. Cristian Soldi

UFSC - Campus Curitibanos, SC

Membro:


Dr. João Frederico Mangrich dos Passos

EPAGRI - Lages, SC

Membro:


Profa. Drª. Janice Regina Gmach Bortoli

IFSC-Urupema, SC

Gratidão à minha família, meu apoio em todos os momentos deste ciclo. Fonte inesgotável, onde me fortaleci e recarreguei minhas energias, principalmente nos momentos de dúvidas e fragilidade.

AGRADECIMENTOS

Quando ciclos são finalizados, o sentimento que exprime o momento é o de Gratidão. Os erros e os acertos, sempre trarão na experiência o aprendizado.

Sou grata a Deus, Divino criador que me permitiu concluir esta etapa da minha vida com muita felicidade no coração, porque as pessoas que fizeram parte deste processo e as experiências vividas, contribuíram para eu ser uma pessoa muito melhor do que eu era. Sou grata à minha família, por tudo que passamos e experenciamos durante esta fase, principalmente com a chegada do Bento, a grande surpresa do doutorado.

Sou grata ao meu companheiro Tienko e a Isa, minha negrinha linda, que me auxiliaram em tudo, quando a mãe precisou ficar horas no laboratório desenvolvendo os experimentos, ou quando a mãe precisou passar horas a fio estudando e pesquisando.

Sou grata aos meus pais Hudson e Zelite, por tudo o que fizeram e fazem sempre, sem medir cansaço ou dificuldades. Sou grata aos manos Bel e Hadson, porque sempre reconheceram e valorizaram muito meu esforço, e me auxiliaram no que fosse necessário. Ao meu sogro, o qual me tornei sua aprendiz nos assuntos ligados ao respeito e cuidado com a natureza, obrigada pelos ensinamentos Tecolho. E a toda família de uma forma muito especial, pois sempre foram meu estímulo para eu nunca desistir.

Sou grata a todas as pessoas que fizeram parte deste processo, que contribuíram não só para o meu crescimento intelectual, mas principalmente pessoal. Entre estas, estão meus queridos professores e orientadores Mari e Pedro, obrigada pelos conselhos, ensinamentos e incentivo. Também fizeram parte desta história os pesquisadores Cristian, com seu auxílio na pesquisa e suporte por meio do Laboratório de Multidisciplinar da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), a querida Lenita, sem medir esforços e a Simone pela dedicação, a vocês, minha gratidão. Lembrarei com muito carinho, dos esforços sem medida dos colegas de laboratório de Homeopatia e Saúde Vegetal, campo e pesquisa, em especial a Aline, a Elisângela, o Tio Júnior, a Leyza, a Mariângela e a tantos outros que me auxiliaram em todas as etapas do meu trabalho, eu só poderia dizer Muito Obrigada.

E por fim, devo deixar aqui meu profundo agradecimento aos professores e professoras, pesquisadores e ao Centro de Ciências Agroveterinárias (UDESC), instituição pública e de referência, que me oportunizaram a conclusão de um trabalho de qualidade com apoio de uma bolsa de pesquisa concedida pelo Fundo de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina (FAPESC).

“Dentro de cada um de nós existem sacrifícios e renúncias que poucos sabem”.

Autor desconhecido.

RESUMO

ROCHA, C. H. Caracterização química de óleos essenciais de *Psidium cattleianum* e seu efeito na sanidade de sementes de *Phaseolus vulgaris*. 2019. 113f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Lages, 2019.

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) pode ser afetado por inúmeras doenças durante todo seu ciclo, causadas principalmente por fungos e bactérias. Muitos dos patógenos causadores de doenças em feijoeiro podem ser transmitidos e transportados pelas sementes. O uso de produtos químicos é o principal meio de controle dos principais patógenos associados as sementes. Visando uma produção mais sustentável, com menor dano ao meio ambiente e menor custo ao produtor rural, os objetivos deste trabalho foram caracterizar os compostos presentes nos óleos essenciais de *Psidium cattleianum* e o potencial desses no controle de patógenos associados as sementes de feijão. Os óleos essenciais foram extraídos a partir de folhas, nos morfotipos vermelho e o amarelo de *P. cattleianum*, provenientes de quatro diferentes locais, sendo três no Município de Lages/SC e um no Município de Bom Retiro/SC e em quatro diferentes fases fenológicas do ciclo da planta. A extração foi realizada pelo método de hidrodestilação, sendo os óleos essenciais e os hidrolatos armazenados em frascos e acondicionadas em refrigeradores para posteriormente serem encaminhadas às análises químicas utilizando a cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas. Os resultados deste experimento e as diferenças em percentuais entre as fases fenológicas e seus respectivos locais de coleta para os dois morfotipos vermelho e amarelo foram separadas por meio da Análise de Componentes Principais (PCA). Após a identificação dos compostos químicos, as amostras foram utilizadas nos testes de proteção fitossanitária nas sementes de feijão, no entanto, anteriormente os tratamentos foram submetidos à diluição, seguindo protocolo estabelecido pela Farmacopéia Homeopática Brasileira. Para os testes de sanidade foi utilizado o delineamento experimental completamente casualizado com 7 tratamentos e 8 repetições para cada tratamento. A parcela experimental foi de 25 sementes em uma placa. Os tratamentos utilizados foram: T1) óleo essencial puro (30 µL); T2) óleo essencial 7CH; T3) óleo essencial 12CH; T4) hidrolato 10%; T5) hidrolato 30%; T6) controle com imersão em água destilada; T7) controle sem imersão em água destilada. As sementes permaneceram submersas durante 4 horas nas respectivas soluções e distribuídas em placas de Petri revestidas com filme e acondicionadas em câmara de germinação, durante 7 dias, com temperatura de 25° (+/- 2°) e fotoperíodo de 12 horas/luz e 12 horas/escuro. Após sete dias, realizou-se a contagem e identificação das colônias de fungos sobre as sementes de feijão. Os dados foram analisados com auxílio do ambiente R, à 5% de significância. A análise dos dados obtidos a partir da composição química dos morfotipos de araçazeiro, caracterizaram a presença de 32 componentes químicos no óleo essencial vermelho e 21 para o amarelo, sendo que a presença de compostos como α-felandreno, iso silvestreno, σ-terpineno, (E) β-ocimeno, butirato 1,4-pentenila, terpinoleno, gama σ-muruleno, α-cadineno, 3,7(11)-selinadieno, germacreno B e α-eudesmol foi possível somente no morfotipo vermelho. Verificou-se que o perfil químico e os compostos majoritários dos óleos essenciais extraídos das folhas de *P. cattleianum* no morfotipo vermelho e amarelo possuem variações, sendo que a fase fenológica e o local de coleta também foram fatores determinantes na quantidade de compostos encontrados. Entre os componentes majoritários, destacaram-se no morfotipo vermelho o 1,8-cineol, α-pineno, α-eudesmol, (E)-cariofileno, p-cimeno. Enquanto que para o morfotipo amarelo verificou-se a predominância do mirceno, do valerianol, além do 1,8-cineol, α-pineno, (E)-cariofileno. No estudo, observou-se grandes variações de incidência dos patógenos nos tratamentos utilizados a partir de cada fase de coleta para os dois morfotipos.

Para os tratamentos obtidos a partir dos morfotipos vermelhos, com relação aos patógenos *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum lindemunthianum* não foi observada diferenças estatísticas entre as fases fenológicas por tratamento, exceto na testemunha sem imersão em que as fases de folhas velhas (2,5%) e frutificação (3,5%) apresentaram os maiores índices do primeiro e testemunhas com (2%) e sem (2,5%) imersão na fase folhas velhas e hidrolato 10% (1,5%) em floração para o segundo patógeno. No caso do *Penicillium* sp. os menores índices foram observados no tratamento hidrolato 30% na fase de frutificação (1%) e testemunha com imersão na fase de folhas novas (0%). Em bactérias, a fase de frutificação se mostrou promissora, nos tratamentos de óleo 12CH, óleo puro e hidrolato 30%, onde os índices foram iguais a zero. No tratamento hidrolato 30%, a fase de folhas novas também apresentou valor igual a zero, assim como as testemunhas com e sem imersão nesta mesma fase fenológica. Para o patógeno *Rhizoctonia* spp., nenhuma diferença estatística foi observada nas fases fenológicas de cada tratamento. E para *Aspergillus flavus*, a fase de floração mostrou os menores índices deste patógeno, para os tratamentos óleo 7CH (2,5%), óleo 12CH (5,0%), hidrolato 10% (3,0%), hidrolato 30% (1,0%), testemunha com (2,0%) e sem imersão (0%), mas não diferiu da fase de folhas novas para os tratamentos óleo 7CH (4%) e testemunha (0%), sendo que para o tratamento óleo puro, apresentou o menor índice (3,5%), nesta mesma fase. Já para os tratamentos advindos dos morfotipos amarelos, no que se refere aos patógenos *F. oxysporum* e *C. lindemunthianum* todos os índices foram iguais ou muito próximos de zero, sem diferenças estatísticas. Com relação ao *Penicillium* sp. houve grande variação nos índices de incidência deste fungo, de modo que o menor percentual foi registrado no tratamento óleo 7CH (7%) na fase de floração, de maneira que sendo este, um patógeno de rápida proliferação, valores próximos ou iguais a zero seriam ideais para evitar maiores contaminações. Para as bactérias, os tratamentos que apresentaram os menores percentuais de colônias foram óleo 12CH nas fases de folhas velhas (6%), que não diferiu de floração (1,0%) e frutificação (4,0%), óleo puro em frutificação (3,5%), hidrolato 10% em folhas velhas (0%), hidrolato 30% na fase de folhas velhas (12%) sem diferenças com a frutificação (11,5%) e testemunhas com imersão na fase de folhas velhas (4,67%) e sem imersão (0%) na floração. Quanto ao patógeno *Fusarium solani*, os tratamentos apresentaram os menores percentuais de controle com índices variando entre os tratamentos óleo 7CH na fase de folhas novas (2,0%) e hidrolato 30% (5,33%) para a mesma fase. No que se refere ao patógeno *Rhizoctnia* spp. não foi observada nenhuma diferença estatística, sendo todos os valores iguais ou próximos de zero. *A. flavus* teve maior controle com tratamentos óleo 12CH, com menor índice em frutificação (16,5%), hidrolato 10%, também em frutificação com 13,0% de incidência, hidrolato 30%, folha novas (12,0%) e testemunha sem imersão para as fases de floração (10,5%) e frutificação (12,0%), não diferindo de folhas novas (5,33%). Houve grande variação entre os tratamentos e as fases fenológicas em que fora obtida o óleo essencial. Deste modo, as diferenças entre os morfotipos amarelo e vermelho de *P. cattleianum*, bem como, as diferenças entre as fases fenológicas e local de coleta, podem apresentar diferentes respostas antifúngicas nas sementes de feijão.

Palavras-Chave: Agrohomeopatia, araçá, atividade antimicrobiana, fases fenológicas.

ABSTRACT

ROCHA, C. H. **Chemical characterization of essential oils of *Psidium cattleianum* and their effect on seed health of *Phaseolus vulgaris*.** 2019. 113f. Thesis (PhD in Plant Production) - State University of Santa Catarina - UDESC, Center of Agroveterinarian Science – CAV. Postgraduate Program in Plant Production, Lages, 2019.

Common bean (*Phaseolus vulgaris*) can be affected by numerous diseases throughout its cycle, mainly caused by fungi and bacteria. Many of the disease-causing pathogens in common beans can be transmitted and transported by seeds. The use of chemicals is one of the main ways to control the major seed-associated pathogens. Aiming a more sustainable production, with less damage to the environment and lower cost to the rural producer, the objectives of this work were to characterize the compounds present in the essential oils of *Psidium cattleianum* and their potential to control bean seed pathogens. The essential oils were extracted from leaves, in the red and yellow morphotypes of *P. cattleianum*, from four different locations, three in the municipality of Lages/SC and one in the municipality of Bom Retiro/SC and in four different phenological phases the plant cycle. The extraction was performed by the hydrodistillation method, and the essential oils and hydrolates stored in bottles and refrigerated for later analysis, that were conducted using gas chromatography coupled with mass spectrometry. The results of this experiment evaluated by the differences in percentages between the phenological phases and their respective collection sites for the two red and yellow morphotypes were separated by Principal Component Analysis (PCA). After identification of the chemical compounds, the samples were used in phytosanitary protection tests in bean seeds, however, previously the treatments were submitted to dilution, following the protocol established by the Brazilian Homeopathic Pharmacopoeia. For the health tests we used a completely randomized experimental design with 7 treatments and 8 replicates for each treatment. The experimental plot was 25 seeds in each petri dishes. The treatments used were: T1) pure essential oil (30 µL); T2) 7CH essential oil; T3) 12CH essential oil; T4) 10% hydrolate; T5) 30% hydrolate; T6) control with immersion in distilled water; T7) control without immersion in distilled water. The seeds were submerged for 4 hours in their solutions and distributed in film-coated Petri dishes and conducted to germination chamber for 7 days at 25° (+/- 2 ° C) and 12 hours light/dark photoperiod for each. After seven days, the counting and identification of the fungal colonies on the seeds was performed. Data were analyzed using the R environment at 5% significance. The analysis of the chemical composition of the guava morphotypes characterized the presence of 32 chemical components in the red essential oil and 21 for the yellow one. The presence of compounds such as α-felandrene, iso silvestrene, σ-terpinene, (E) β-ocimene, 1,4-pentenyl butyrate, terpinolene, gamma σ-murulene, α-cadinene, 3,7 (11) -selinadiene, germacrene B and α-eudesmol was possible only in the red morphotype. It was found that the chemical profile and major compounds of the essential oils extracted from *P. cattleianum* leaves in the red and yellow morphotype have variations, and the phenological phase and the place of collection were also determining factors in the number of compounds found. Among the major components, the red morphotype stood out for 1,8-cineol, α-pinene, α-eudesmol, (E) - caryophyllene, p-cymene. While for the yellow morphotype there was a predominance of mircene, valerianol, in addition to 1,8-cineol, α-pinene, (E)-caryophyllene. In the study, we

observed large variations in the incidence of pathogens in the treatments used from each collection phase for both morphotypes. For the results obtained from the red morphotypes, with respect to the pathogens *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum lindemuthianum*, no statistical differences were observed between the phenological phases, except in the control without immersion in which the phases of old leaves (2.5%) and fruiting (3.5%) presented the highest rates. In the case of *Penicillium* sp. the lowest rates were observed in the hydrolate treatment 30% in the fruiting phase (1%) and control with immersion in the young leaves phase (0%). In bacteria, the fruiting phase was promising, in the treatments of 12CH oil, pure oil and 30% hydrolate, the indices were zero. In the hydrolate 30% treatment, the phase of new leaves also presented value equal to zero, as well as the controls with and without immersion in this same phenological phase. For the *Rhizoctonia* spp. pathogen, no statistical difference was observed in the phenological phases of each treatment. And for *Aspergillus flavus*, the flowering phase showed the lowest rates of this pathogen with the treatments 7CH oil (2.5%), 12CH oil (5.0%), 10% hydrolate (3.0%), 30% hydrolate (1.0%, 0%), control with (2.0%) and without immersion (0%), but did not differ from the leaf phase for the 7CH oil (4%) and control (0%) treatments. Pure oil had the lowest index (3.5%) in this same phase. For the treatments derived from the yellow morphotypes, for the pathogens *F. oxysporum* and *C. lindemuthianum* all indices were equal or very close to zero, without statistical differences. With respect to *Penicillium* sp. there was great variation in the incidence rates of this fungus, so that the lowest percentage was recorded in the 7CH oil treatment (7%) in the flowering phase. For the bacteria, the treatments with the lowest percentages of colonies were 12CH oil in the leaves (6%), which did not differ from flowering (1.0%) and fruiting (4.0%), pure fruiting oil (3.5%), hydrolate 10% in old leaves (0%), hydrolate 30% in the old leaves phase (12%) without differences with fruiting (11.5%) and controls with immersion in the old leaves phase (4.67%) and without immersion (0%) in flowering. As for the pathogen *Fusarium solani*, the treatments presented the lowest control percentages with indices varying between the treatments 7CH oil in the leaves (2.0%) and hydrolate 30% (5.33%) treatments for the same phase. With regard to the pathogen *Rhizoctnia* spp. no statistical difference was observed, all values being equal to or close to zero. *A. flavus* had better control with 12CH oil treatments, with lower index in fruiting phase (16.5%), for hydrolate 10% in fruiting (13%), in hydrolate 30% in new leaves (12.0. %), the control without immersion in the flowering (10.5%) and fruiting (12.0%) phases, not differing from the new leaves (5.33%). There was great variation between the treatments and the phenological phases in which the essential oil was obtained. Thus, the differences between the yellow and red morphotypes of *P. cattleianum*, as well as the differences between the phenological stages and collection site, may present different antifungal responses in bean seeds.

Keywords: Agrohomeopathy, guava, antimicrobial activity, phenological phases.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Morfotipos de <i>Psidium cattleianum</i> . A) Araçá-vermelho; B) Araçá-amarelo..... | 23 |
| Figura 2 – Locais de coletas de amostras de folhas de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo amarelo e vermelho, 2017/18. | 34 |
| Figura 3 – Registro das fases fenológicas da especie <i>Psidium cattleianum</i> . A) Copa completa e início de senescência; B) Folhas novas; C) Floração; D) Frutificação. Localidade de Pedras Brancas, Lages, SC, 2017..... | 37 |
| Figura 4 – Equipamento Clevenger utilizado para o processo de hidrodestilação de óleo essencial de folhas de araçazeiro..... | 38 |
| Figura 5 – Espectro de Cromatógrafo Gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) do óleo essencial de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo vermelho. | 40 |
| Figura 6 – Espectro de Cromatógrafo Gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) do óleo essencial de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo amarelo. | 41 |
| Figura 7 – Compostos químicos presentes em óleos essenciais de <i>Psidium cattleianum</i> divididos nos grupos monoterpenos e sesquiterpenos (oxigenados e não oxigenados). | 44 |
| Figura 8 - Compostos químicos presentes em óleos essenciais de <i>Psidium cattleianum</i> no grupo de composto aromático e éster. | 45 |
| Figura 9 – Compostos majoritários encontrados em plantas de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo vermelho, em diferentes locais e fases fenológicas..... | 46 |
| Figura 10 – Compostos majoritários encontrados em plantas de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo amarelo, em diferentes locais e fases fenológicas. | 49 |
| Figura 11 – Análise de componentes principais (PCA) do óleo essencial de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo vermelho. | 56 |
| Figura 12 – Análise de componentes principais (PCA) do óleo essencial de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo amarelo. | 58 |
| Figura 13 – Teste piloto realizado para determinação de patógenos em sementes de feijão. A) Placa de petri em BOD; B) Exemplo de microrganismos identificados. Lages, 2018..... | 70 |
| Figura 14 – Sementes de feijão dispostas em placa de Petri, após tratamento sanitário com hidrolatos e óleos essenciais extraídos de folhas de <i>Psidium cattleianum</i> . Lages/SC, 2018. .. | 71 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Cronograma das coletas nas diferentes fases fenológicas, morfotipos e locais das amostras de folhas de <i>Psidium cattleianum</i> | 36 |
| Tabela 2 – Compostos químicos separados por classes terpênicas de óleo essencial de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo vermelho. | 42 |
| Tabela 3 - Compostos químicos separados por classes terpênicas de óleo essencial de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo amarelo. | 43 |
| Tabela 4 – Composição química de óleos essenciais de folhas de <i>Psidium cattleianum</i> , do morfotipo vermelho, coletadas em diferentes locais e diferentes fases fenológicas. | 52 |
| Tabela 5 – Composição química de óleos essenciais de folhas de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo amarelo, coletadas em diferentes locais e diferentes fases fenológicas. | 54 |
| Tabela 6 – Incidência inicial registrada em sementes de feijão após tratamento com hidrolatos e óleos essenciais de <i>Psidium cattleianum</i> | 72 |
| Tabela 7 - Microrganismos identificados nas sementes de feijão para cada fase fenológica analisada, após imersão em óleo essencial e hidrolato de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo vermelho. | 76 |
| Tabela 8 - Microrganismos identificados nas sementes de feijão para cada fase fenológica analisada, após imersão em óleo essencial e hidrolato de <i>Psidium cattleianum</i> , morfotipo amarelo. | 80 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 21 |
| 1.1 <i>Psidium cattleianum</i> | 22 |
| 1.2 Óleos essenciais | 24 |
| 2 CAPÍTULO 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE FOLHAS DOS MORFOTIPOS VERMELHO E AMARELO DE <i>PSIDIUM CATTLEIANUM</i> | 29 |
| 2.1 RESUMO | 29 |
| 2.2 INTRODUÇÃO..... | 31 |
| 2.3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 33 |
| 2.3.1 Coleta das folhas de araçazeiro | 33 |
| 2.3.2 Extrações de óleos essenciais das folhas de araçazeiro | 37 |
| 2.3.3 Análises químicas dos óleos essenciais de araçazeiro | 38 |
| 2.3.4 Análise de Dados | 39 |
| 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 40 |
| 2.4.1 Composição química do óleo essencial de araçazeiro..... | 40 |
| 2.4.2 Componentes químicos majoritários em óleos de araçazeiro..... | 46 |
| 2.4.3 Substâncias voláteis nos óleos essenciais de <i>Psidium cattleianum</i> | 51 |
| 2.4.3.1 Morfotipo vermelho | 51 |
| 2.4.3.2 Morfotipo amarelo..... | 53 |
| 2.4.3 Locais de coleta das folhas de araçazeiro | 55 |
| 2.4.4 Fases fenológicas do araçazeiro..... | 55 |
| 2.5 CONCLUSÃO..... | 59 |
| 3 CAPÍTULO 2 – OCORRÊNCIA DA MICROFLORA FÚNGICA EM SEMENTES DE FEIJÃO COMUM TRATADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS HOMEOPATIZADOS E HIDROLATOS DE FOLHAS DE <i>PSIDIUM CATTLEIANUM</i> | 63 |
| 3.1 RESUMO | 63 |
| 3.2 INTRODUÇÃO..... | 65 |
| 3.3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 67 |
| 3.3.1 Coleta e extração dos óleos essenciais de <i>Psidium cattleianum</i> | 67 |
| 3.3.2 Concentração de hidrolatos e óleos essenciais | 68 |
| 3.3.3 Tratamento das sementes..... | 69 |

| | |
|---|-----|
| 3.3.4 Análise de dados e estatística | 71 |
| 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 72 |
| 3.4.1. Morfotipo Vermelho | 73 |
| 3.4.2. Morfotipo Amarelo | 78 |
| 3.5 CONCLUSÕES | 82 |
| 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 85 |
| REFERÊNCIAS | 89 |
| ANEXO A – Perfil químico de óleos essenciais de <i>Psidium cattleianum</i>, morfotipo vermelho, localizados em quatro diferentes locais de Lages e Bom Retiro, SC..... | 110 |
| ANEXO B – Perfil químico de óleos essenciais de <i>Psidium cattleianum</i>, morfotipo vermelho, localizados em quatro diferentes locais de Lages e Bom Retiro, SC..... | 112 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil destaca-se como um dos países de maior biodiversidade no mundo, principalmente, pelas condições edafoclimáticas e da grande amplitude de latitude (ALHO, 2012). A biodiversidade configura-se pela variedade de todas as formas de vida, desde microrganismos à flora e fauna silvestre, que convivem em conjunto estrutural e funcional, formando o ecossistema (ALHO, 2012). Considerando a diversidade vegetal estima-se que somente no grupo das Angiospermas existam entre 30.000 a 35.000 espécies distribuídas no Brasil (FORZZA et al., 2010). No grupo das Angiospermas, inúmeras plantas contribuem para a rica biodiversidade e pela fonte de espécies alimentícias, ornamentais e medicinais (SILVA; RABELO; ENOQUE, 2015). A família Myrtaceae destaca-se, no Brasil, por apresentar mais de mil espécies distribuídas em 23 gêneros (SOBRAL et al., 2017). Dos 23 gêneros que compõe a família Myrtaceae, descritos até o momento, o gênero *Psidium* é um importante representante em todos os biomas brasileiros, onde 43% são nativas do Brasil, possuindo cerca de 150 espécies, composta por arbustos ou árvores produtoras de frutos comestíveis (FRANZON et al., 2009). Na Região Sul do Brasil, encontram-se vários representantes deste gênero, como *Psidium cattleianum* Sabine (araçá comum ou araçazeiro); *P. incanescens* Martins; *P. grandifolium* Martins (araçá catuba); *P. arboreum* Vell (araçá-acu); e *P. humile* Vell., com as variedades *grandifolium* e *longipes* (PIO CORREA, 1926). Mattos (1978) cita ainda, *Psidium lucidum* var. *pauciflora* Cambess (araçá-da-pedra), *P. lucidum* Spreng, *P. pubifolium* Burr. e *P. australe* Cambess, todas conhecidas como araçazeiro-do-campo. O mesmo autor faz referência à *P. incanum* Berg como araçá-cinzento.

No estado de Santa Catarina, destacam-se oito espécies nativas: *Psidium cattleianum*, *Psidium salutare*, *Psidium grandifolium*, *Psidium guajava*, *Psidium guineense*, *Psidium longepetiolatum*, *Psidium ovale*, *Psidium australe* (FLORA DO BRASIL, 2020). Muitos destes recursos vegetais nativos são considerados de grande importância, pelo potencial de uso como fonte alternativa de renda para muitas famílias (LISBÔA; KINUPP; BARROS, 2011). Entretanto, a espécie *Psidium cattleianum* é a mais amplamente distribuída no estado de Santa Catarina e dispõe-se de pouca informação sobre o potencial dos óleos essenciais e sua diferenciação entre os morfotipos encontrados de maior abundância, o vermelho e o amarelo.

1.1 *Psidium cattleianum*

A espécie nativa brasileira *Psidium cattleianum*, muito comum na região Sul do Brasil, é comumente conhecido como araçazeiro ou araçá e tem seu nome do tupi *ara'as*, ou do guarani *ara* (céu) e *aza* (olho), que significa fruta com olhos ou olhos do céu (RASEIRA et al., 2004; FRANZON et al., 2009). A fruta do araçazeiro é utilizada no consumo *in natura* ou como suco, geleias e sorvetes. Muito suculenta, possui polpa doce e sub-ácida com toque apimentado, podendo ser incluída em diversas receitas culinárias. São fontes de vitamina C, minerais, ácidos graxos, polissacarídeos, compostos voláteis, carotenoides e compostos fenólicos, que auxiliam na regulação de nutrientes no organismo e conferem diferentes funções biológicas (PEREIRA et al., 2018).

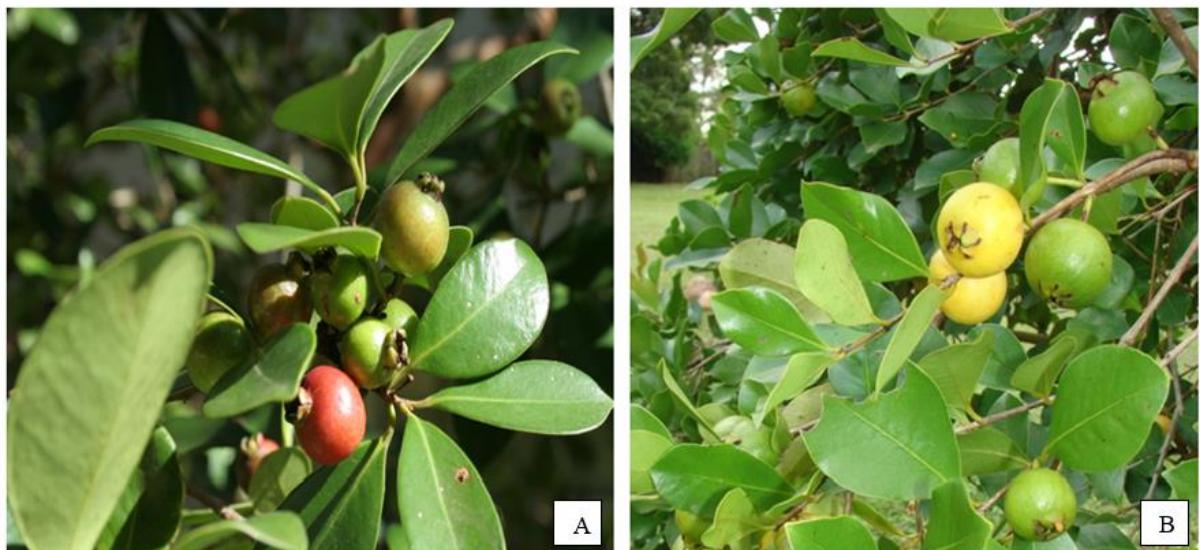
Estudos demonstram que *P. cattleianum* pode ser utilizado como medicinal para manutenção da saúde. Scur et al. (2016) realizando experimento sobre as atividades antimicrobianas e antioxidantes de óleos essenciais e de extratos vegetais aquoso e etanólico de *P. cattleianum*, apontam que o extrato aquoso e óleos essenciais apresentaram atividade antimicrobiana em bactérias *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus epidermidis*, enquanto em outras bactérias possuíam apenas ação inibitória branda. Quanto à ação antioxidant, os autores descrevem que os extratos etanólico e aquosos apresentaram índice de sequestro superior a 90%. Desse modo, extratos e óleos essenciais podem ser utilizados para inibir o crescimento de microrganismos e extratos vegetais apresentam atividade antioxidant. Sangalli et al. (2018), avaliando a atividade antimicrobiana dos extratos foliares de *P. cattleianum* combinados com hidróxido de cálcio contra o biofilme de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, demonstram redução significativa na carga microbiana de ambos os biofilmes. Faleiro et al. (2016) apontam que a composição de metabólitos secundários, a baixa toxicidade e a atividade antimicrobiana da espécie podem ser promissoras na busca e desenvolvimento de novos fármacos. Outros estudos demonstram a utilização da espécie como antifúngica (CASTRO et al., 2015), hepatoprotetor (PAULINO et al., 2019), anticancerígeno (MEDINA et al., 2011; IM et al., 2012), analgésica (ALVARENGA et al., 2013), antioxidant e citoprotetora (MOON et al., 2013) e em doenças das vias urinárias e disenteria (BOSCOLO, 2013).

As atividades biológicas observadas em extratos de *P. cattleianum* estão relacionadas a constituintes bioquímicos. Chalannavar et al. (2012), utilizando cromatografia gasosa (GC) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) para análise dos compostos do óleo essencial da espécie, descrevem a presença de óxido de cariofileno

(29,56%), óxido de aloaromadendeno (6,82%), 12-oxabiciclo dodeca-3,7-dieno (5,85%) e 1H-Cicloprop[e]azuleno (3,49%). Franco (2001) salienta, também, a presença dos minerais de cálcio, fósforo e ferro, além de conter fibras e em sua casca o tanino, um polifenóis rico em propriedades antioxidantes. Além da utilização medicinal, dos araçazeiros são aproveitados os frutos e a madeira (BEZERRA et al., 2006). De acordo com Chalannavar et al. (2012), a alta concentração de óxido de cariofileno no óleo essencial, também, sugere sua utilização como conservante natural em alimentos industriais. O consumo *in natura* e o cultivo dos frutos, juntamente com a produção artesanal e agroindustrial de alimentos, agrega valor aos produtos vegetais primários e podem beneficiar muitas comunidades locais (BEZERRA et al. 2006).

A espécie *P. cattleianum* possui dois morfotipos, um de frutos amarelos (araçá amarelo) e outro de frutos vermelhos (araçá vermelho). A fenologia do florescimento ocorre em duas épocas principais, a primeira no final de setembro a outubro, e a segunda em dezembro, podendo ocorrer em alguns anos uma terceira floração em março (RASEIRA et al., 2004). A maturação dos frutos ocorre entre outubro a março (SOBRAL, 2003) (Figura 1).

Figura 1 – Morfotipos de *Psidium cattleianum*. A) Araçá-vermelho; B) Araçá-amarelo.



Fonte: Flora Digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/>>. Acesso em: 11 mar. 2019.

A espécie apresenta flores brancas, hermafroditas, com numerosos estames, e com ovário ínfero, em geral com três ou quatro lóculos, geralmente com mais de 100 óvulos (SANCHOTENE, 1989). Os grãos de pólen podem apresentar em formas distintas, triangulares, arredondadas, ovais ou disformes (RASEIRA; RASEIRA, 1996). Nos frutos são

encontrados entre 16 a 100 sementes, podendo variar pelo local de coleta e floração do ano (SANCHOTENE, 1989).

Diferenças entre os dois morfotipos são a coloração dos frutos, anatomia das cascas e organização estrutural do caule (ROCHA et al., 2008). Os aromas são característicos, sendo determinado pela interação dos compostos voláteis presente nos morfotipos, que ficam evidentes pela presença dos óleos essenciais (SIMÕES; SPITZER, 2004; EGEA et al., 2014). Diferenças quanto à composição de compostos fenólicos e ácidos graxos e sua atividade antioxidante foram encontradas por Biegelmeyer et al. (2011).

Entretanto, segundo Franzon (2004), há escassez de trabalhos científicos sobre a fenologia de brotação, floração e frutificação dessa espécie, bem como, seus atributos de constituintes bioquímicos. Desse modo, na pesquisa busca-se salientar as diferenças quanto aos constituintes bioquímicos dos óleos essenciais de ambos os morfotipos em *Psidium cattleianum*, visto que a aplicação desses poderá ser diferente, dependendo do objetivo na agricultura.

1.2 Óleos essenciais

O uso de óleos voláteis data de há muito tempo, 3.500 a.C, onde sacerdotisas egípcias queimavam resinas aromáticas de plantas, como incenso em templos, com o objetivo de limpar a mente (MOSS, 2006). Porém, o termo óleo essencial só foi definido no século XVI por Paracelso, médico e alquimista suíço, de forma que o componente efetivo da droga foi denominada de a “quinta essência” (EDRIS, 2007).

As plantas produzem grande diversidade de produtos químicos que podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são compostos comuns em todas as plantas e estão diretamente envolvidos no seu crescimento e desenvolvimento, incluindo-se os açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos, e moléculas maiores, sintetizadas a partir destes, como proteínas, polissacarídeos, membranas, DNA e RNA (TAIZ et al., 2014). Os metabólitos secundários, por sua vez, são altamente especializados e desempenham um papel intermediário entre o metabolismo primário e a interação dos organismos com seu ambiente (TAIZ et al., 2014). A resposta de defesa da planta contra pragas e patógenos é uma das interações intermediárias e de regulação das interações biológicas, incluindo a atração de polinizadores, moduladores da resposta ao estresse abiótico. Nessa ação estão os grupos bioquímicos dos terpenos, compostos fenólicos ou alcaloides (TAIZ et al., 2014). Se estes componentes apresentam

atividade biológica, como antimicrobiano, anti-inflamatório, antioxidante ou outro, então é possível gerar uma nova fonte de princípios ativos para medicamentos ou alternativas em substituição aos existentes no mercado (ZELLNER et al., 2010).

A produção dos metabólitos secundários na planta é gerada a partir de um estímulo de defesa em virtude de algum estresse ou sinal de perigo sofrido e que apresenta uma função muito específica nas plantas, garantindo a sua perpetuação e sobrevivência (SIMÕES et al., 2010). A partir desse processo, os metabólitos secundários podem ser responsáveis por diversas atividades biológicas mediadas por compostos farmacologicamente relevantes para aplicação nos setores de alimentos, farmacêutica, agronômica, cosmética, entre outros (SIMÕES et al., 2010). Esses metabólitos, geralmente, apresentam uma estrutura química complexa com baixo peso molecular, baixa concentração e são específicos a determinados grupos de plantas (BERG; LUBERT, 2008). Entre os principais grupos estão os taninos, flavonóides, alcalóides, cumarinas, antraquinonas, óleos essenciais e as saponinas (SIMÕES et al., 2010).

A composição química e o rendimento dos óleos essenciais extraído de plantas podem variar em função das variações ambientais, geográficas, sazonais e circadianas (CERQUEIRA et al., 2009). Gobbo-Neto e Lopes (2007) descrevem que uma mesma espécie botânica pode sofrer alterações quanto aos metabólitos secundários pelas condições de coleta, estabilização e estocagem destas. Os óleos são essenciais misturas complexas de substâncias voláteis e por isso altamente voláteis em sua estabilidade (MIRANDA et al., 2016). Sua principal característica sendo a volatilidade, diferem-se dos óleos fixos, mistura de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes (SIMÕES; SPITZER, 2004). Os óleos essenciais são utilizados para saborizar produtos alimentícios, empregados na higiene bucal, perfumaria e produtos de limpeza. No entanto, os estudos aprofundam-se quanto à utilização dos óleos nos diversos tratamentos para manutenção da saúde (AMARAL et al., 2018). Essa importância se dá devido aos principais constituintes encontrados nos óleos essenciais, tais como os derivados terpênicos (monoterpenos, sesquiterpenos) e fenilpropanoides (SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012).

Nos últimos anos, pesquisas demonstram que os óleos essenciais podem ser utilizados na agricultura, principalmente para o controle de fitopatógenos, sendo que esses podem substituir o uso demasiado de agrotóxicos (RAMOS; ANDREANI JUNIOR; KOZUSNY-ANDREANI, 2016). A eficiência destes é relatada em diversos trabalhos, que demonstram que a ação dos óleos essenciais é eficiente e possui baixa ou nenhuma toxicidade ao meio ambiente, visto que são biodegradáveis (MORAIS et al., 2009a; FONSECA et al., 2015).

De acordo com Pavela e Benelli (2016), a utilização destes ainda não é disseminada de forma mais ampla, pois existem alguns entraves como: desenvolvimento de processos eficientes de estabilização; simplificação dos requisitos complexos e dispendiosos de autorização de biopesticidas; otimização das condições de crescimento das plantas para extração de óleos essenciais; e processos de extração que mantenham a composição química mais homogênea.

Nesse sentido, a utilização da homeopatização de óleos essenciais mostra-se como alternativa viável por apresentar baixo custo aos agricultores, maior estabilização destes e menor risco de toxicidade (OLIVEIRA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2017). No entanto, poucos são os estudos que demonstram a eficiência desses por meio da técnica de homeopatização. A homeopatização dos óleos essências segue normativas descritas pela Farmacopéia Homeopatia Brasileira (2011), que utiliza diretrizes baseadas nos preceitos da homeopatia tradicional. Amparada pela Instrução Normativa nº 17 de 2014, o uso de preparados homeopáticos é recomendado para controle de doenças, insetos-pragas, bem como, para o equilíbrio fisiológico das plantas (BRASIL, 2014). Na homeopatia, os preparados são dinamizados, potencializados ou ultradiluídos e, portanto, podem ser realizados em óleos essenciais a fim de manter estabilidade e reduzir possíveis toxicidades (TEIXEIRA; CARNEIRO, 2017).

Dentre as famílias com grande potencial de extração de óleos essenciais é a das Myrtaceae. Muitos estudos mostram a capacidade de atuação dos óleos das diferentes espécies para finalidades profiláticas e de tratamento em doenças agudas e crônicas. Espécies como a *Melaleuca alternifolia* (HOMER et al., 2000), *Eugenia dysenterica* (GALHEIGO et al., 2016), *Eugenia hiemalis* (ZATELLI et al., 2015), *Myrcia splendens* (SCALVENZI et al., 2017), *Eucalyptus spp.* (GOODGER et al., 2016), *Algrizea Minor* (VERAS et al., 2019), *Syzygium lanceolatum* (MUTHUMPERUMAL et al., 2016) e outras, apresentam potencial na utilização dos óleos essenciais. O gênero *Psidium* comprehende várias espécies com atividades medicinais. Fazem parte dessas espécies, o *Psidium laruotteanum* (MEDEIROS et al., 2018), *Psidium friedrichsthalianum* e *Psidium guajava* (GRANADOS-CHINCHILLA et al., 2016), *Psidium guineense* (FIGUEIREDO et al., 2018) e *Psidium cattleianum* (SCUR et al., 2016).

No entanto, mesmo com inúmeros publicações sobre a importância e potencial de uso dos óleos essenciais na família das Myrtaceae, em especial ao gênero *Psidium*, poucas são os estudos em espécies nativas de *Psidium* do Brasil. Bizzo, Hovell e Rezende (2009) descrevem que a produção dos óleos essenciais não atende à demanda exigida pelo mercado de perfumaria nacional e internacional, que busca sempre novas essências. Da mesma forma,

Cavaleiro (2007) aponta que a intensificação de estudos acerca dos óleos essenciais de espécies brasileiras pode suprir necessidades farmacêuticas encontradas atualmente no mercado. Corroborando, Bandoni e Czepak (2008) descrevem que aproximadamente 65% do mercado de essências vem de espécies cultivas, enquanto somente 1% é de espécie silvestre. Assim, existe grande importância em intensificar estudos da flora brasileira, visando a identificação das espécies produtores de óleos voláteis (YUNES; CECHINEL FILHO, 2016).

Desse modo, o objetivo do trabalho de tese foi identificar a composição química de óleos essenciais de folhas dos morfotipos amarelo e vermelho de *Psidium cattleianum*, oriundos de diferentes locais e coletados em diferentes fases fenológicas. Considerando a importância na aplicabilidade desses e possíveis ações no controle de fitopatógenos, buscou-se identificar o potencial dos óleos essenciais homeopatizados na proteção contra o ataque de fungos durante a fase de germinação de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*).

2 CAPÍTULO 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE FOLHAS DOS MORFOTIPOS VERMELHO E AMARELO DE *PSIDIUM CATTLEIANUM*

2.1 RESUMO

O presente estudo tem por objetivo a caracterização química, quantificação e a identificação de componentes majoritários de óleos essenciais oriundos de *Psidium cattleianum* (araçazeiro). Os óleos essenciais de araçazeiro foram extraídos de folhas coletadas nos horários entre 14:30 e 15:00 horas do período vespertino, a partir de dois diferentes morfotipos, vermelho e amarelo da planta, advindos de quatro diferentes locais situados no Município de Bom Retiro (comunidade de Campo Novo) e Lages (comunidade de Pedras Brancas, bairro Morro Grande e Estação Experimental da Epagri), no período entre 28/07/2017 a 08/03/2018, considerando as fases fenológicas de folhas velhas /queda foliar (FLV/QF), folhas novas/botões florais (FLN/BF), floração e frutificação. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, durante 02 horas consecutivas, armazenados em frascos e acondicionadas em refrigeradores e após encaminhados às análises químicas utilizando a cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas. A identificação dos constituintes químicos foi feita através da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-MS e índice de Kovats. As diferenças em percentuais entre as fases fenológicas e seus respectivos locais de coleta, foram separadas por meio da Análise de Componentes Principais (PCA) a 5% de significância. Os resultados das análises mostraram que o perfil químico do morfótipo vermelho apresentou diferenças em relação ao morfótipo amarelo. De maneira que o morfótipo vermelho apresentou 32 componentes distribuídos nos seguintes grupos de terpenos: 10 monoterpenos não oxigenados, sendo que os maiores percentuais variaram entre as diferentes fases, com destaque para o local Epagri (35,4%) na fase de FLN/BF; 4 monoterpenos oxigenados, com os maiores percentuais observados na fase de FLV/QF, com destaque para Morro Grande (70,2%); 9 sesquiterpenos não oxigenados, com variação entre seus percentuais, onde os maiores valores foram observados na frutificação, nos locais Epagri (20,9%), Bom Retiro (20,9%) e Pedras Brancas (22,7%) e na fase de FLN/BF para o local Morro Grande (29,4%); 6 sesquiterpenos oxigenados, com maiores percentuais obtidos na fase de frutificação, destacando o local Epagri (24,7%), 1 éter (4,8%) e 1 hidrocarboneto aromático (33,4%), os quais foram observados apenas no local Morro Grande, na fase fenológica de frutificação. O morfótipo amarelo apresentou 21 componentes, dos quais 6 eram monoterpenos não oxigenados, com percentuais que variaram entre as diferentes fases fenológicas, e maior concentração observada em Bom Retiro (46,98%) na fase de FLV/QF; 4 monoterpenos oxigenados, maiores percentuais sendo observados na fase de FLV/QF e destaque para o local Morro Grande (54,36%); 5 sesquiterpenos não oxigenados, maiores valores foram registrados na fase de frutificação, com destaque para o local Epagri (35,07%); 5 sesquiterpenos oxigenados, com três locais de coleta contribuindo para os maiores percentuais na fase de frutificação, com destaque para Bom Retiro (24,09%) e 1 hidrocarboneto aromático, que apresentou no geral baixos percentuais, destacando a fase de FLV/QD com o local Bom Retiro (2,34%). O morfótipo vermelho apresentou como componentes químicos principais o 1,8-cineol com maiores percentuais foram registrados durante a FLV/QF, com destaque para o local Morro Grande (55,8%); α-pineno mostrou-se em maiores concentrações durante as coletas realizadas na fase de FLN/BF, destacando o local Epagri (18,4%); as concentrações de α-eudesmol tiveram maior influência da fase de frutificação com maior percentual (8,8%) advindos de Bom Retiro, já para o (E)-cariofileno, a

fase de frutificação também foi representativa, sendo que 3 locais foram importantes nesta fase, com maior percentual (10,9%) nas amostras coletadas na fase de FLN/BF no local Morro Grande, e o p-cimeno que foi registrado somente no local Morro Grande nas fases de FLN/BF (19%) e frutificação (33,4%), caracterizando a influência do local para este componente químico. Para as coletas realizadas a partir dos morfotipos amarelos os compostos majoritários encontrados foram, 1,8-cineol, com destaque para as coletas realizadas na fase de FLV/QF, e maiores percentuais no local Morro Grande (45,48%); α -pineno apresentou quantidade variável entre locais e fases, com maiores percentuais registrados em FLN/BF, para três locais de coleta, sendo que o maior percentual foi na fase de floração (31,83%) em Pedras Brancas; o (E)-cariofileno apresentou maiores percentuais na fase de frutificação, destacando local Pedras Brancas (20,72%); o composto mirceno foi variável entre fases e locais, com expressiva concentração em Morro Grande (21,57%) na fase de FLN/BF; valerianol, apresentou os maiores percentuais durante fase de frutificação, advindos do local Bom Retiro (10,14%). A partir dos resultados observados, parece evidente que os morfotipos, fases fenológicas e locais de coleta são fatores que influenciam na caracterização química e na quantificação dos componentes majoritários dos óleos essenciais oriundos de folhas de *Psidium cattleianum*. Desta forma, é possível programar as coletas em função das diferentes fases fenológicas e locais de coleta, de maneira que estas informações, podem ser utilizados como estratégia de manejo de acordo com a substância química de interesse.

2.2 INTRODUÇÃO

Espécies nativas do Brasil vem sendo amplamente estudadas por apresentarem metabólitos secundários que podem ser utilizados para diversos fins. Com alto potencial nutracêutico e maior diversidade de espécie de ocorrência no sul do país, a família Myrtaceae é conhecida por agrupar espécies muito aromáticas e por possuírem frutos saborosos (CERQUEIRA et al., 2009; SIMÕES; SPITZER, 2010; BERNARDES et al., 2017). Representante expressivo dessa família, o gênero *Psidium* destaca-se pela capacidade de atuar como antimicrobiano (ISSA; TALIB; HABASH, 2016), antifúngico (MORAIS-BRAGA et al., 2017) e antioxidante (FLORES et al., 2015).

No gênero *Psidium*, a espécie *Psidium cattleianum* é reportado por possuir óleos essenciais que são extraídos das folhas (SCUR et al., 2016). Comumente conhecido como araçá ou araçazeiro, é encontrado nas zonas temperadas do Brasil, em especial na região sul (FRANZON et al., 2009). Estudos tem mostrado a importância da espécie, pois esta apresenta constituintes químicos funcionais e possui potencial nutracêutico e terapêutico (MEDINA et al., 2011). Difere-se por possuir dois morfotipos, um de frutos amarelos (araçá amarelo) e outro de frutos vermelhos (araçá vermelho) (RASEIRA et al., 2004), sendo que estes podem apresentar diferenças quanto a presença dos compostos fenólicos e ácidos graxos, bem como, na capacidade antioxidante (BIEGELMEYER et al., 2011). No entanto, mesmo sendo utilizado na culinária ou pelas ações terapêuticas que possui, poucos são os estudos que demonstram os compostos fenólicos ou metabólitos voláteis presentes nos óleos essenciais da espécie (MARQUES et al., 2008).

Óleos essenciais são metabólitos secundários com composição complexa de substâncias lipofílicas e sua principal característica é a volatilidade (OUSSALAH et al., 2007; SIMÕES; SPITZER, 2010). A composição química e o rendimento dos óleos podem variar em função diferentes estruturas da planta, das condições ambientais e geográficas onde localizam-se as plantas e das circunstâncias sazonais e circadianas no momento da coleta da matéria prima (CERQUEIRA et al., 2009; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). De acordo com Morais (2009b) tomar o cuidado com esses aspectos garante a qualidade dos óleos essenciais, pois consequentemente, afetará os compostos presentes nos óleos e os resultados de tratamentos e testes biológicos sobre patógenos ou fitopatógenos que podem ser alterados.

Desta forma, se torna importante a pesquisa da quimiotaxonomia ou estudo fitoquímico em plantas, ou seja, a investigação dos compostos químicos presentes nas plantas, sua relação e a predominância de compostos na espécie. Neste sentido, é necessário que se

faça a padronização das épocas de colheita, das partes da planta que serão colhidas para extração dos óleos voláteis e das formas de cultivo das plantas alvo, que devem ser sob as mesmas condições ambientais, de forma a auxiliar na identificação de variedades e morfotipos que apresentam diferenças na sua composição química (Castro et al., 2004b; Klein et al., 2009; Silva et al., 2010). Manter um rigor nas coletas, se faz necessário uma vez que condições ambientais de cultivo e a época de colheita (estágio da planta) podem interferir na composição e quantificação dos óleos essenciais produzidos (Barbosa et al., 2007; Demuner et al., 2011; Martins et al., 2006).

Por serem extraídos de plantas, os óleos essenciais são naturais e biodegradáveis e na maioria das vezes, apresentam baixa toxicidade, o que possibilita seu uso para diversos fins. Óleos essenciais do tipo flavorizantes são utilizados na fabricação de perfumes, cosméticos e para fins medicinais (FIGUEIREDO et al., 2008).

Dentre os compostos presentes nos óleos essenciais, os terpenos são a principal classe encontrada (SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA NOVALES, 2012), constituem a maior classe de produtos naturais e são considerados os recursos mais importantes para a indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (LIMA et al., 2016). Esses compostos atuam como antioxidante, antibacteriano, citotóxico e antifúngico (SHRINIWAS; SUBHASH, 2017; BOUND; MURTHY; SRINIVAS, 2016). Para o grupo dos terpenos, os principais encontrados são os monoterpenos (duas unidades de isopropeno) e sesquiterpenos (três unidades de isopropeno), sendo que estes representam a classe com maior gama de atividades biológicas (CHIZZOLA, 2013). Muitas espécies da família Myrtaceae são fundamentais para diversas áreas industriais, visto que essas possuem alta concentração desses terpenos, encontrados majoritariamente nas folhas, no entanto, diferindo-se em maior e menor grau dependendo da espécie em que fora retirado o óleo essencial (PADOVAN et al., 2014).

Estudos investigando a composição do óleo essencial do *P. cattleianum* mostram disparidades, tendo em vista as diferentes condições em que são cultivadas, bem como a variedade da espécie. Chalannavar et al. (2013) descrevem que *P. cattleianum* var. *lucidum* é cultivado na África do Sul e a identificação através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/MS) mostrou 53 componentes químicos, representando 61% do óleo essencial. Os principais compostos encontrados pelos autores foram óxido de cariofileno (12,43%), biciclo (4,4,0) dec-1-eno (6,61%), diacetato de 2,3-butanodiol (4,84%) e patchouleno (4,73%).

Em pesquisa de Marques et al. (2008), utilizando óleo essencial a partir de folhas de *P. cattleianum* Sabine, coletadas na Mata Atlântica no Sudeste do Brasil, mostram que através de

GC e GC/MS detectou-se α -thujene (25,2%), 1,8-cineole (16,4%) e β -cariofileno (10,2%). Paroul et al. (2007), utilizando também GC/MS, reportaram os principais grupos funcionais de *P. cattleianum* tipo araçá-amarelo com sesquiterpenos (63%), sesquiterpenos oxigenados (15,1%), monoterpenos oxigenados (12,5%) e as substâncias majoritárias foram o 1,8-cineol (11,9%) e o trans-cariofileno (20,2%).

Tendo em vista as diferenças encontradas por demais autores em relação a composição química de *Psidium cattleianum*, o objetivo desta pesquisa foi determinar a composição de compostos presentes nos óleos voláteis extraídos das folhas de *Psidium cattleianum*, em seus morfotipos amarelo e vermelho em diferentes fases fenológicas e de diferentes locais de cultivo.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Homeopatia e Saúde Vegetal na Estação Experimental da Epagri – Lages/SC com apoio do Laboratório Interdisciplinar de Estudos com Produtos Naturais da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Curitibanos/SC.

O trabalho foi conduzido em três etapas assim determinadas:

- 1- Coletas de amostras de folhas de *Psidium cattleianum* dos morfotipos amarelo e vermelho em diferentes estádios fenológicos e quatro locais, sendo dois localizados na área urbana do Município de Lages e dois locais em área rural, sendo um no Município de Lages e outro em Bom Retiro, apresentando diferentes altitudes, pluviosidade e temperaturas médias.
- 2- Extrações dos óleos essenciais e hidrolatos por hidrodestilação, utilizando o aparelho denominado Clevenger;
- 3- Identificação e quantificação dos componentes voláteis dos óleos através de técnicas em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, caracterizando os grupos funcionais dos óleos essenciais, a cada fase fenológica das plantas e local de coleta.

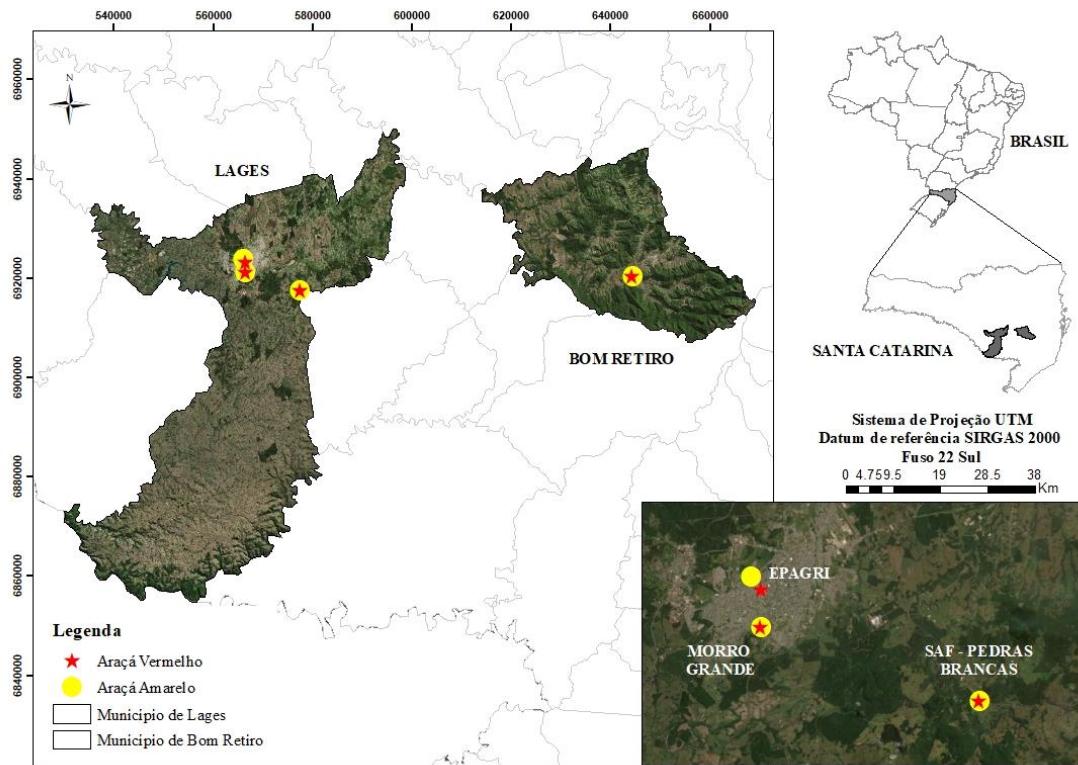
2.3.1 Coleta das folhas de araçazeiro

Para extração dos óleos essenciais foram utilizadas as folhas de plantas de *Psidium cattleianum* localizadas em quatro diferentes e em quatro diferentes fases de estágio

fenológico desta planta. As coletas foram realizadas na safra 2017/2018 e os pontos onde foram realizadas as coletas foram georeferenciados (Figura 2).

As plantas originadas do Município de Bom Retiro, Morro Grande e Pedras Brancas foram plantadas entre os anos de 2012 e 2013, portanto com idade variando entre 6 a 7 anos. As plantas localizadas na Estação Experimental da Epagri possuem idade entre

Figura 2 – Locais de coletas de amostras de folhas de *Psidium cattleianum*, morfotipo amarelo e vermelho, 2017/18.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

No local de coleta localizado na comunidade de Campo Novo, em Bom Retiro os acessos dos dois morfotipos vermelho e amarelo estavam inseridos em sistema agroflorestal. A área possui altitude de 865 metros, coordenadas de 27°50'04" latitude sul e 49°32'09" de longitude oeste. O clima do município é quente e temperado, com temperatura média anual de 16,2 °C e 1586 mm de pluviosidade média anual (KÖPPEN; GEIGER, 1928).

O segundo local foi numa propriedade na comunidade de Pedras Brancas, Lages/SC, onde os araçazeiros estavam inseridos em sistema agroflorestal. Nesse local a altitude é de 882 m, coordenadas geográficas de 27°51'52" sul e 50°12'41" oeste. O clima é quente e

temperado, com temperatura média anual de 16,6 °C e 1383 mm de pluviosidade média anual (KÖPPEN; GEIGER, 1928).

O terceiro local de coleta foi em propriedade localizada no perímetro urbano de Lages/SC, com coordenadas de 27°49'53,4" sul e 50°19'32,5" oeste, em altitude de 969 metros, em quintal florestal com espécies arbóreas nativas. Neste local o clima é quente e temperado, com temperatura média anual de 16,6 °C e pluviosidade média anual de 1441 mm (KÖPPEN; GEIGER, 1928).

O quarto local de coleta foi na Estação Experimental da Epagri de Lages, com coordenadas de 27°49'53,4" sul e 50°19'32,5" oeste, com as mesmas características de temperatura do terceiro local de coleta.

Em cada local de coleta as plantas de araçazeiro foram identificadas de forma que a coleta das folhas, nas diferentes fases fenológicas, fosse realizada sempre da mesma planta. A cada visita periódica utilizou-se uma planilha constando dados como data da coleta, morfotipo e fases fenológicas. Adicionalmente, registrou-se as coordenadas geográficas e registro fotográfico das respectivas fases fenológicas (Tabela 1) (Figura 3).

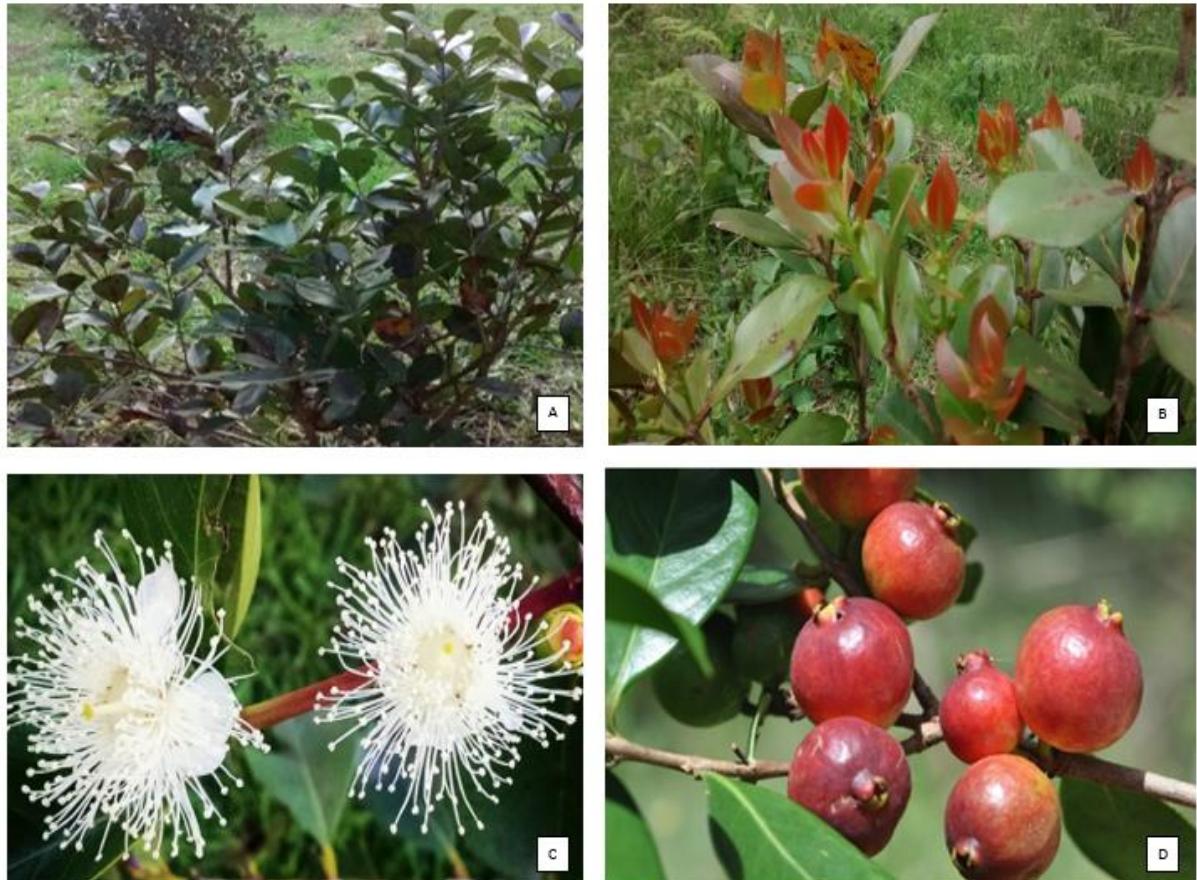
As datas de coletas foram estabelecidas de acordo com as fases fenológicas de cada planta do respectivo local, respeitando as diferenças entre as fases fenológicas de cada local de origem. Todas as coletas foram realizadas nos horários entre 14:30h e 15:00h, estabelecidas em função de ajustes necessários à logística e estrutura para coleta (Tabela 1).

Tabela 1 – Cronograma das coletas nas diferentes fases fonológicas, morfotipos e locais das amostras de folhas de *Psidium cattleianum*.

| Fase fenológica | Morfotipo | Data de coleta | Local |
|------------------------|------------------|-----------------------|----------------|
| ¹ FLV/QF | Amarelo | 28/07/17 | Epagri |
| FLV/QF | Vermelho | 31/07/17 | Epagri |
| FLV/QF | Amarelo | 02/08/17 | Morro Grande |
| FLV/QF | Vermelho | 08/08/17 | Morro Grande |
| FLV/QF | Amarelo | 09/08/17 | Pedras Brancas |
| FLV/QF | Vermelho | 09/08/17 | Pedras Brancas |
| FLV/QF | Amarelo | 20/08/17 | Bom Retiro |
| FLV/QF | Vermelho | 20/08/17 | Bom Retiro |
| ² FLN/BF | Vermelho | 23/10/17 | Epagri |
| FLN/BF | Amarelo | 24/10/17 | Epagri |
| FLN/BF | Vermelho | 26/10/17 | Morro Grande |
| FLN/BF | Amarelo | 27/10/17 | Morro Grande |
| FLN/BF | Vermelho | 05/11/17 | Bom Retiro |
| FLN/BF | Amarelo | 05/11/17 | Bom Retiro |
| FLN/BF | Amarelo | 12/11/17 | Pedras Brancas |
| FLN/BF | Vermelho | 12/11/17 | Pedras Brancas |
| ³ FLO | Vermelho | 27/11/17 | Morro Grande |
| FLO | Amarelo | 05/12/17 | Morro Grande |
| FLO | Vermelho | 03/12/17 | Bom Retiro |
| FLO | Amarelo | 03/12/17 | Bom Retiro |
| FLO | Amarelo | 07/12/17 | Epagri |
| FLO | Vermelho | 11/12/17 | Epagri |
| FLO | Amarelo | 11/12/17 | Pedras Brancas |
| FLO | Vermelho | 11/12/17 | Pedras Brancas |
| ⁴ FRUT | Vermelho | 06/02/18 | Morro Grande |
| FRUT | Amarelo | 08/02/18 | Morro Grande |
| FRUT | Vermelho | 15/02/18 | Epagri |
| FRUT | Amarelo | 01/03/18 | Epagri |
| FRUT | Vermelho | 18/02/18 | Bom Retiro |
| FRUT | Amarelo | 18/02/18 | Bom Retiro |
| FRUT | Vermelho | 08/03/18 | Pedras Brancas |
| FRUT | Amarelo | 08/03/18 | Pedras Brancas |

¹ FLV – folhas velhas ou copa completa; QF – queda de folhas ou árvores/senescênci;a; ² FLN – folhas novas ou brotação; BF – botão floral; ³ FLO – floração; ⁴ FRUT – frutificação.

Figura 3 – Registro das fases fenológicas da espécie *Psidium cattleianum*. A) Copa completa e início de senescência; B) Folhas novas; C) Floração; D) Frutificação. Localidade de Pedras Brancas, Lages, SC, 2017.

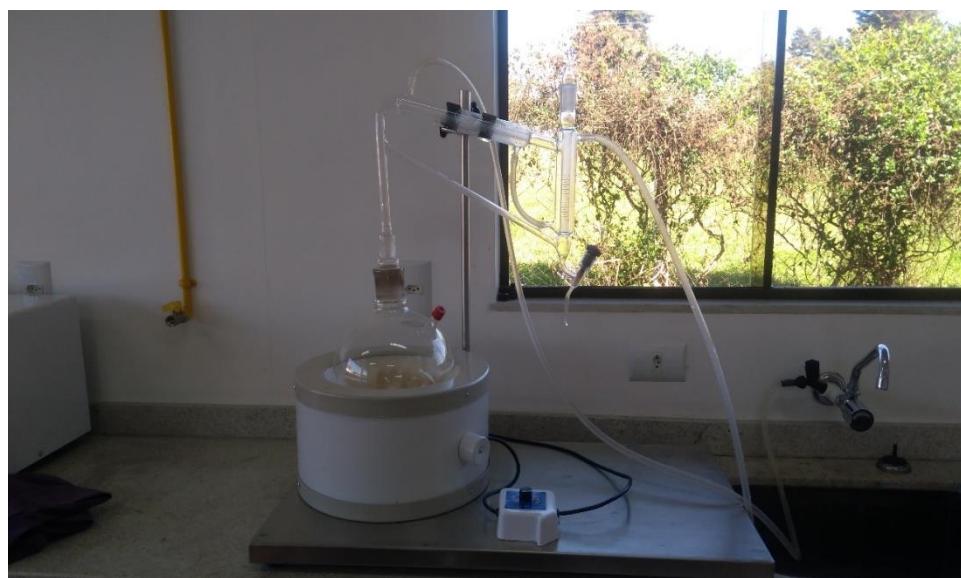


Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

2.3.2 Extrações de óleos essenciais das folhas de araçazeiro

Após a coleta, as folhas de *Psidium cattleianum* foram acondicionadas em caixas térmicas para transporte e encaminhadas ainda frescas para extração dos óleos essenciais. A extração foi realizada através do método de hidrodestilação, utilizando o equipamento laboratorial Clevenger, capacidade interna de 5 L, adequado para extração de pequenas quantidades (Figura 4).

Figura 4 – Equipamento Clevenger utilizado para o processo de hidrodestilação de óleo essencial de folhas de araçazeiro.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

O material vegetal coletado (folhas) foi selecionado e higienizado em água corrente, retirando o excesso de água sobre uma camada de papel absorvente e em seguida as folhas foram picadas em tamanhos em torno de 3 cm. A massa de folhas variou entre 230,00g a 300,00g, conforme o melhor acomodamento do material dentro da dorna do destilador. Na técnica, a água quente rompe os vacúolos que contêm o óleo e faz o arraste deste até o condensador. No condensador ocorre a troca de calor, fazendo com que tanto o óleo como a água retornem para o estado líquido.

Todas as extrações foram realizadas durante um período de 2 horas, tempo determinado a partir de teste piloto. No processo de extração, obtinha-se média 900 ml de hidrolato sujo (com as folhas) e 100 ml de hidrolato (limpo) por ciclo. Para cada espécie foram feitas quatro repetições, considerando os locais de coleta.

2.3.3 Análises químicas dos óleos essenciais de araçazeiro

As análises químicas do componentes dos óleos essenciais foram realizadas pelo método de cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa (CG-MS). As análises foram realizadas no Laboratório Multusuário de Análises Instrumentais (LAMAI) na Universidade Federal de Santa Catarina – Campus de Curitibanos. Para as análises, 20 μL de amostra dos óleos foi dissolvida em 1,0 mL hexano as quais foram injetadas (1 μL) em

cromatógrafo gasoso Agilent (Agilent 7890A) equipado com espectrômetro de massas (MS 5975C) e injetor automático Combipal (GC sampler 80). Foi utilizada coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) com fluxo de gás Hélio de 1,0 ml min⁻¹. Para a separação cromatográfica, foi utilizado programa de temperatura de 60 °C até 280 °C à uma taxa de 4 °C por minuto. A temperatura do injetor e da interface foram ajustadas para 300 °C. A fonte de íons foi mantida em 230 °C e os espectros foram obtidos por impacto de elétrons (IE) a 70 eV.

Para determinação da porcentagem relativa, os picos foram integrados manualmente em software G1701EA GC/MSD Chemstation. A identificação dos componentes foi realizada através da análise comparativa dos espectros de massas referente a cada pico com os espectros de massas de padrões autênticos e do índice de Kovats para cada substância (ADAMS, 2011). Os índices de retenção de Kovats foram obtidos através da injeção de uma mistura de n-alcanos (C7-C32; Sigma Aldrich) sob as mesmas condições utilizadas para o óleo essencial, aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

A composição química dos óleos essenciais foi analisada em separado pelo morfotipo vermelho ou amarelo, local de coleta e fase fenológica. Para o morfotipo vermelho determinou-se os grupos de monoterpeno não oxigenado, monoterpeno oxigenado, sesquiterpeno não oxigenado, sesquiterpeno oxigenado, éster e hidrocarboneto aromático e para o amarelo todos os grupos citados anteriormente, com exceção do éster.

2.3.4 Análise de Dados

Os dados foram sumebmetidos à Análise de Componentes Principais (PCA) de forma que novas variáveis foram geradas por meio de uma combinação linear das variáveis originais. Essa técnica multivariada tem o objetivo reproduzir a informação contida nas várias variáveis originais, utilizando um conjunto menor de variáveis (componentes) com perda mínima de informação.

A transformação para um subespaço n-dimensional foi realizada com o software “R”, escolhendo-se os *n* componentes principais. As vantagens da utilização desta técnica de processamento de dados multivariados são: (a) Exploração eficiente da base de dados; (b) Visualização; (c) Redução dos dados; (d) Geração de hipóteses para agrupamentos de novas variáveis (SANCEVERO, 2008).

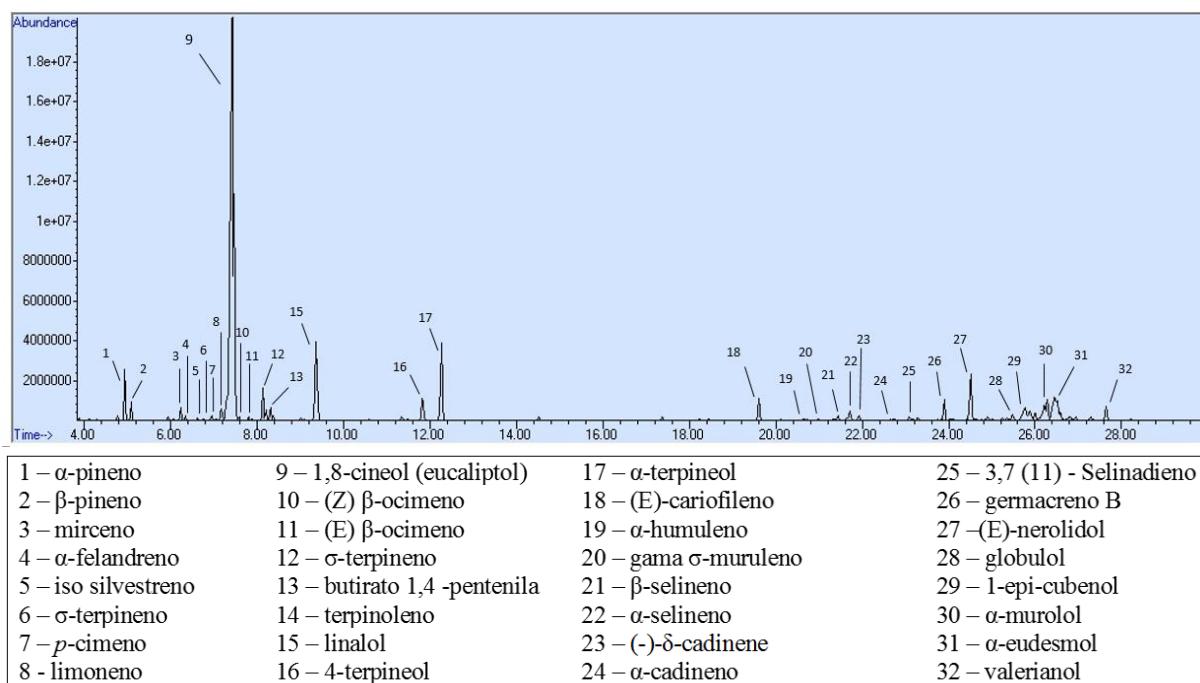
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados serão apresentados inicialmente o perfil completo dos morfotipos vermelho e amarelo, os compostos majoritários encontrados nestes e os principais grupos de terpenos presentes nos óleos essenciais extraídos de folhas de *Psidium cattleianum*, oriundos de quatro diferentes locais de coleta e quatro estágio fenológico diferentes.

2.4.1 Composição química do óleo essencial de araçazeiro

Para o morfótipo vermelho identificou-se no total 32 compostos químicos, distribuídos em 10 compostos monoterpênicos não oxigenados, 4 monoterpênicos oxigenados, 9 sesquiterpenos não oxigenados, 6 sesquiterpenos oxigenados, 1 éter e 1 hidrocarboneto aromático (Figura 5).

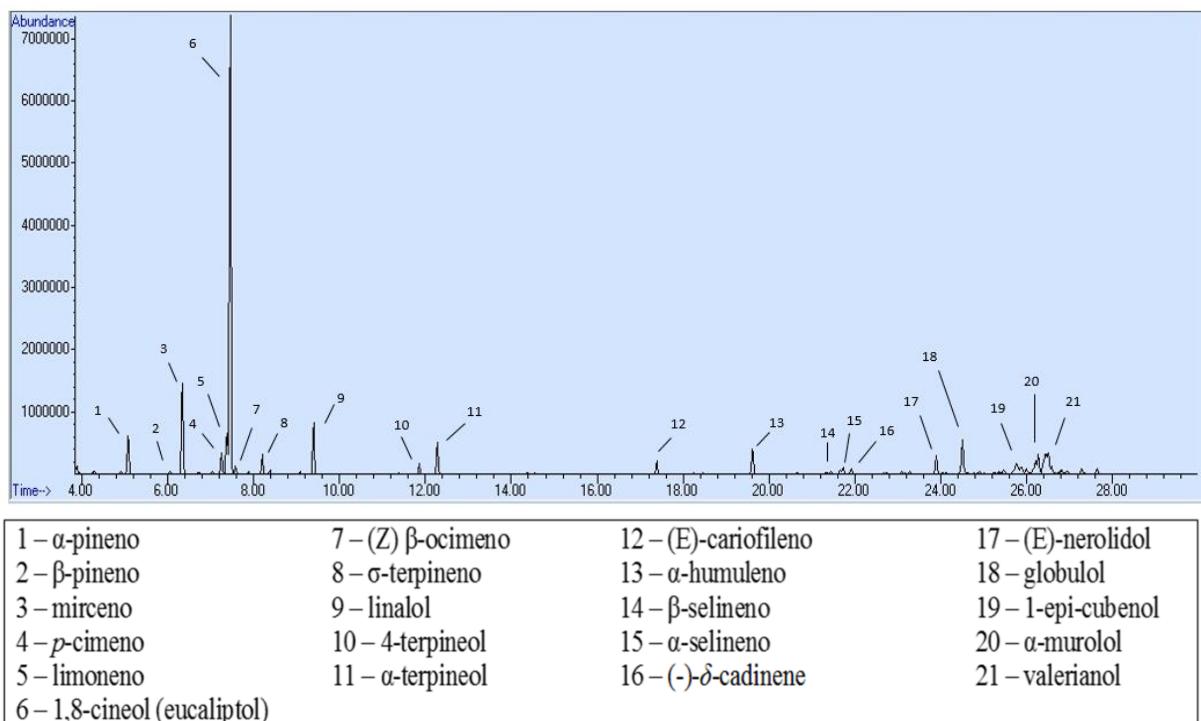
Figura 5 – Espectro de Cromatógrafo Gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) do óleo essencial de *Psidium cattleianum*, morfótipo vermelho.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Os compostos detectados no morfótipo amarelo (21) foram distribuídos em 6 monoterpênicos não oxigenados, 4 monoterpênicos oxigenados, 5 sesquiterpenos não oxigenados, 5 sesquiterpenos oxigenados e 1 hidrocarboneto aromáticos (Figura 6).

Figura 6 – Espectro de Cromatógrafo Gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) do óleo essencial de *Psidium cattleianum*, morfotipo amarelo.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

A presença dos compostos foi detectada em maiores e menores quantidades, dependendo dos locais de coleta das amostras e das fases fenológicas em que se encontravam. No entanto, a detecção dos compostos α -felandreno, iso silvestreno, σ -terpineno, (E) β -ocimeno, butirato 1,4-pentenila, terpinoleno, gama σ -muruleno, α -cadineno, 3,7(11)-selinadieno, germacreno B e α -eudesmol foi possível somente no morfotipo vermelho. Inferindo assim, que existem diferenças quanto à composição química entre os dois morfotipos. De acordo com Rocha et al. (2008), a diferença entre os morfotipos amarelo e vermelho não é vista somente nos compostos químicos encontrados, como foi realizado nesta pesquisa. Rocha e colaboradores verificando a análise comparativa da organização estrutural dos tecidos que compõem a casca caulinar de *P. cattleianum*. Os mesmos autores relatam diferenças na epiderme, arranjo das células parenquimáticas e na organização do floema capsulado. Do mesmo modo, Pereira et al. (2017) apresentam que os frutos dos morfotipos de araçá apresentam diferenças quantificáveis em relação aos compostos encontrados. Esses autores descrevem que frutos de araçá vermelho apresentam maior concentração de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante total em comparação aos frutos do araçá amarelo, corroborando os dados encontrados nesta pesquisa.

Estudos demonstram que a espécie possui distinções quantos aos números cromossômicos, variando desde $2n= 44, 55, 66, 77$ a 88 , o que pode acarretar diferenças significativas na espécie (MACHADO, 2016). O autor ainda descreve que os morfotipos amarelo e vermelho não se distinguem pelo nível de ploidia, mas as adaptações da espécie são consideravelmente distintas. O morfotipo vermelho tende a se distribuir nas regiões de maior altitude em comparação ao morfotipo amarelo. Esse fator está ligado a tendência dos níveis de ploidia em se adaptar às condições ambientais mais adversas, como maior incidência de radiação solar, temperaturas mais altas e menor precipitação.

Os compostos químicos detectados nos óleos essenciais de *P. cattleianum* para o morfotipo vermelho estão divididos nos grupos terpênicos: monoterpenos, sesquiterpenos, compostos aromático e éster (Tabela 2).

Tabela 2 – Compostos químicos separados por classes terpênicas de óleo essencial de *Psidium cattleianum*, morfotipo vermelho.

| Compostos | | | | | |
|---------------------|----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------|
| Monoterpenos | | Sesquiterpenos | | Composto aromático | Éster |
| Oxigenados | Não oxigenados | Oxigenado | Não oxigenados | | |
| 1,8-cineol | α pineno | E-cariofileno | (E)-nerolidol | p-cimeno | Butirato 1,4 - pentenila |
| linalol | β -pineno | α -humuleno | globulol | | |
| 4-terpineol | mirceno | σ -muuruleno | 1-epi-cubenol | | |
| α -terpineol | α -felandreno | β -selineno | α -murolol | | |
| | iso silvestreno | α -selineno | α -eudesmol | | |
| | limoneno | Δ -cadineno | valerianol | | |
| | (Z) β -ocimeno | α -cadineno | | | |
| | (E) β -ocimeno | 3,7 (11) - selinadieno | | | |
| | σ -terpineno | germacreno B | | | |
| | terpinoleno | | | | |

No morfotipo amarelo, não foram encontrados os compostos α -felandreno, iso silvestreno, (E) β - ocimeno e terpinoleno no grupo de monoterpenos não oxigenados; no grupo dos sesquiterpenos não oxigenados não detectou-se σ -muuruleno, α -cadineno, 3,7 (11) - selinadieno e germacreno B; no sesquiterpenos oxigenados não identificou-se o composto α -eudesmol (Tabela 3).

Tabela 3 - Compostos químicos separados por classes terpênicas de óleo essencial de *Psidium cattleianum*, morfotipo amarelo.

| Compostos | | | | | |
|--------------|----------------|----------------|----------------|--------------------|--------------------------|
| Monoterpenos | | Sesquiterpenos | | Composto aromático | Ester |
| Oxigenados | Não oxigenados | Oxigenado | Não oxigenados | | |
| 1,8-cineol | α pineno | E-cariofileno | (E)-nerolidol | p-cimeno | Butirato 1,4 - pentenila |
| linalol | β- pineno | α-humuleno | globulol | | |
| 4-terpineol | Mirceno | | 1-epi-cubenol | | |
| α-terpineol | limoneno | β-selineno | α-murolol | | |
| | (Z) β-ocimeno | α-selineno | | | |
| | σ-terpineno | Δ-cadineno | valerianol | | |

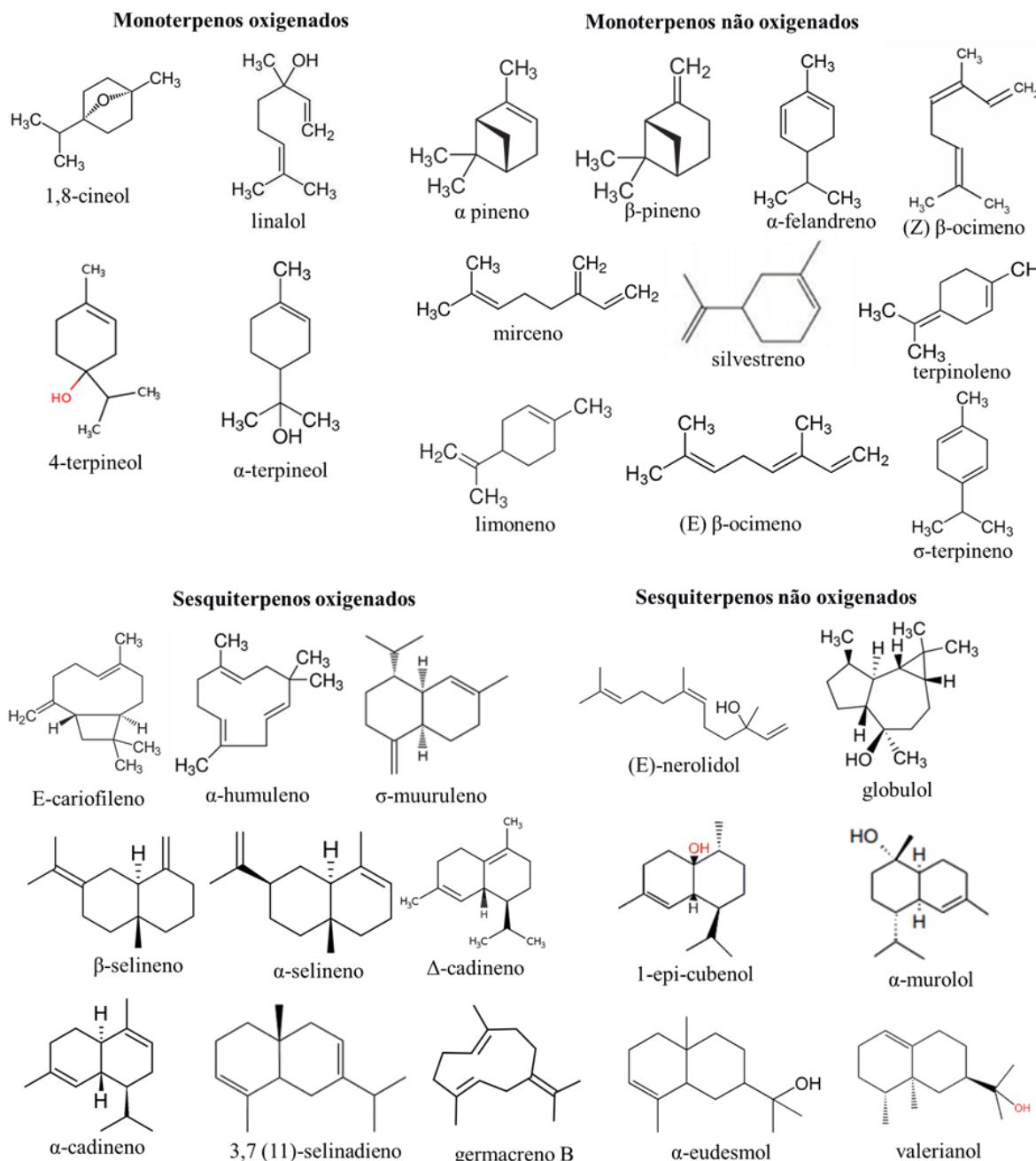
Na classe dos terpenos, os monoterpenos são relatados principalmente com atividades antimicrobianas (KIFER; MUŽINIĆ; KLARIĆ, 2016; MARCHESE et al., 2017), antifúngicas (WANG et al., 2017; ZHOU et al., 2019) e antiviral (ZAMORA et al., 2016). Do mesmo modo, autores retratam a importância dos sesquiterpenos como anticancerígeno, antioxidante, antimicrobiano (DAHHAM et al., 2015), antiviral e antifúngico (LOPES et al., 2018).

De acordo com Farkas e Mohácsi-Farkas (2014), os monoterpenos e sesquiterpenos são estruturas terpênicas que apresentam alta volatilidade e grande importância para fabricação de produtos naturais, principalmente pelo aroma que secretam de frutas, ervas aromáticas, especiarias e condimentos. A síntese dos monoterpenos ocorre através da polimerização do mevalonato, que é transformado em isopentil-pirofosfato e seu isômero dimetilatil-pirofosfato. Os sesquiterpenos são formados pela ligação das moléculas que formaram o monoterpenos a trans-geranyl-pirofosfato e isopentil-pirofosfato (SANTOS, 2004).

Os monoterpenos e sesquiterpenos podem ser divididos em oxigenados e não oxigenados. Os compostos oxigenados desempenham um papel muito importante nos óleos essenciais e frequentemente são responsáveis pelas principais atividades biológicas encontradas. Entretanto, a quantidade dos compostos oxigenados pode variar de acordo com o método de extração dos óleos utilizado (AMORATI et al., 2013; FERREIRA et al., 2017). Os compostos não oxigenados, assim como os oxigenados, também influenciaram sobre efeitos encontrados nos compostos dos óleos essenciais. A conformação das moléculas, cíclicas ou acíclicas, dentro dos grupos monoterpenos e sesquiterpenos (oxigenados e não oxigenados) variam da planta, da época e local de coleta (OLIVEIRA et al., 2018).

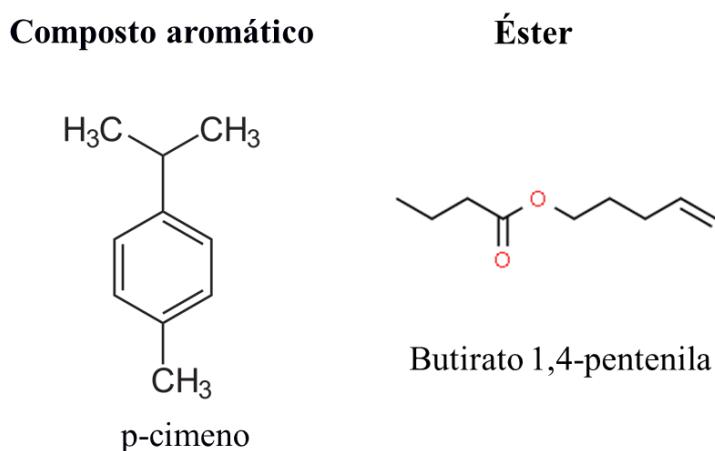
No estudo, verificou-se a diferença na presença desses compostos entre os morfotipos amarelo e vermelho, no entanto, todos os compostos presentes no morfotipo amarelo apresentavam-se também no vermelho. Quanto à estrutura química desses, são inúmeras diferenças encontradas (Figura 7).

Figura 7 – Compostos químicos presentes em óleos essenciais de *Psidium cattleianum* divididos nos grupos monoterpenos e sesquiterpenos (oxigenados e não oxigenados).



Verificou-se a presença do composto aromático p-cimeno nos óleos essenciais dos dois morfotipos de *P. cattleianum*. O composto é relatado em diversas espécies da família das Myrtaceae (HNAWIA et al., 2012; MEDEIROS et al., 2015; BUSTOS-SEGURA, 2017) (Figura 8).

Figura 8 - Compostos químicos presentes em óleos essenciais de *Psidium cattleianum* no grupo de composto aromático e éster.



Autor: Elaborado pelo autor, 2019.

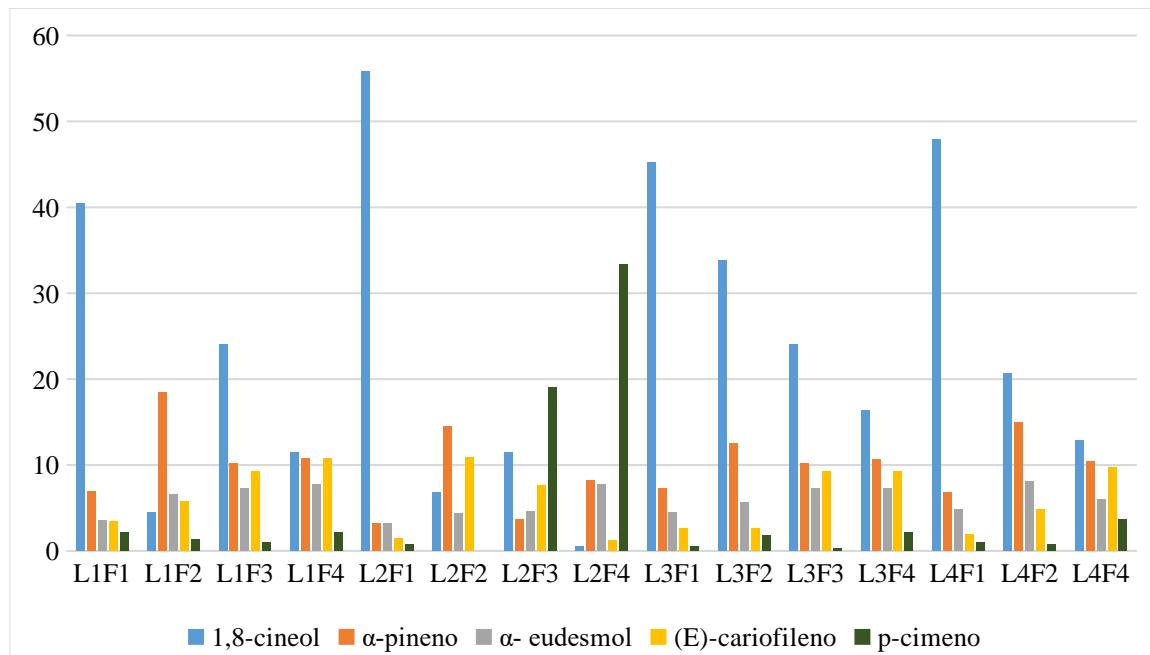
Compostos aromáticos presentes em óleos essenciais são derivados de fenilpropano (mistura de aldeídos, álcoois, fenóis, derivados metóxi e compostos metilniodioxi) (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STANSHENKO, 2010). Os compostos aromáticos são os principais responsáveis pela aromatização dos óleos essenciais, sendo muito importantes para a indústria de perfumaria e cosmética (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Esses compostos apresentam estrutura cíclica e possuem funções bioquímicas importantes (HUIZA et al., 2017).

O éster butirato 1,4-pentenila foi detectado nos morfotipos vermelho e amarelo dos óleos de *P. cattleianum*. Os ésteres são muito importantes nos óleos essenciais e possuem propriedades aromáticos, sendo que podem ser sintetizados por diversos mecanismos. Alguns apresentam propriedades antibióticas e inseticidas, e não possuem toxicidade para humanos. Assim, são empregados como aditivos na indústria de alimentos, cosméticos e suplementos médicos (PAROUL, 2011).

2.4.2 Componentes químicos majoritários em óleos de araçazeiro

Verificou-se que o perfil químico e os compostos majoritários dos óleos essenciais extraídos das folhas de *P. cattleianum* no morfotipo vermelho e amarelo possuem variações, sendo que a fase fenológica e o local de coleta também foram fatores determinantes na quantidade de compostos encontrados. No morfotipo vermelho, os compostos químicos principais foram o 1,8-cineol, α-pineno, α-eudesmol, (E)-cariofileno, p-cimeno (Figura 9).

Figura 9 – Compostos majoritários encontrados em plantas de *Psidium cattleianum*, morfotipo vermelho, em diferentes locais e fases fenológicas.



*L1F1 – Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e queda foliar; L1F2 – Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais; L1F3 – Estação Experimental da Epagri, floração; L1F4 – Estação Experimental da Epagri, frutificação; L2F1 – Morro Grande, folhas velhas e queda foliar; L2F2 – Morro Grande, folhas novas e botões florais; L2F3 – Morro Grande, floração; L2F4 – Morro Grande, frutificação; L3F1 – Bom Retiro, folhas velhas e queda foliar; L3F2 – Bom Retiro, folhas novas e botões florais; L3F3 – Bom Retiro, floração; L3F4 – Bom Retiro, frutificação; L4F1 – Pedras Brancas, folhas velhas e queda foliar; L4F2 – Pedras Brancas, folhas novas e botões florais; L4F4 – Pedras Brancas, frutificação.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Os dados de compostos majoritários foram considerados a partir dos compostos identificados durante todas as fases fenológicas e quantidade detectada no Cromatógrafo Gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS). A fase fenológica de floração em coleta do Morro Grande não foi demonstrada no gráfico, pois a quantidade de óleo essencial obtida não foi suficiente para realização da amostra. O composto químico 1,8-cineol, comumente conhecido como eucaliptol, foi identificado em maior quantidade em comparação

aos demais compostos majoritários, presentes no Morro Grande (55,8%), Pedras Brancas (47,9%), Bom Retiro (45,2%) e Epagri (40,4%), sendo todos esses detectados em maior quantidade durante a fase de folhas velhas e queda foliar. O 1,8-cineol é relatado por possuir efeito anti-inflamatório, antioxidante (ZHAO et al., 2014), antiviral (LI et al., 2016), e antibactericida (MOGHIMI; ALIAHMADI; RAFATI, 2017). Na família das Myrtaceae muitas espécies são relatadas com altos níveis de 1,8-cineol, sendo assim, uma característica marcante e com potencial de uso farmacológico (STEFANELLO et al., 2009; STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011; MONTEIRO et al., 2013).

O composto α -pineno foi encontrado em maior quantidade na Estação Experimental da Epagri (18,4%), Pedras Brancas (15,0%), Bom Retiro (12,5%) e Morro Grande (11,5%), na fase de folhas novas e botões florais, caracterizando a influência desta fase fenológica para produção de maiores percentuais deste composto. O α -pineno é considerado o monoterpeno mais abundante presente em plantas (ZHANG et al., 2015). Possui atividade antioxidante, anticancerígeno, genotóxico (AYDIN; TÜRKEZ; GEYKOĞLU, 2013), anti-inflamatório, condroprotetor (RUFINO et al., 2014), atividade citotóxica e antiparasitária (SOBRAL-SOUZA, 2014). Possui capacidade de atuar como larvicida ecologicamente correto contra vetores de malária, dengue, mosquitos da encefalite japonesa (GOVINDARAJAN et al., 2016), bem como, anti-Leishmania (RODRIGUES et al., 2015).

Para o composto α -eudesmol houve variação entre 3,2% a 8,8%, ocorrendo principalmente em Bom Retiro durante a frutificação (8,8%) (Figura 9). Mesmo apresentando menores porcentagens em relação aos demais compostos, possui grande potencialidade farmacológica, bem como, o 1,8-cineol e o α -pineno. Estudo demonstra que o α -eudesmol atua na atividade inibitória do canal de cálcio do tipo P, presente apenas no sistema nervoso central. Quando há excesso de liberação de neurotransmissores ocorre degeneração neuronal, e a atuação de α -eudesmol como bloqueador desse tipo de cálcio pode ser efetivo no tratamento de apoplexia cerebral, doença de Alzheimer e enxaqueca (AOYAMA; ARAKI; KONOIKEB, 2001). Bomfim et al. (2013) aponta que esse composto também apresenta efeito citotóxico para as células cancerígenas, assim, sendo um candidato em potencial para desenvolvimento de novos fármacos.

Os maiores percentuais do composto químico (E)-cariofileno foram encontrados nas amostras extraídas da fase de frutificação para 3 locais de coleta Estação Experimental da Epagri (10,8%), Pedras Brancas (9,7%) e Bom Retiro (8,6%), apenas para o local Morro Grande a fase de folhas novas e botões florais (10,9%), foi importante para maiores percentuais deste composto. Pesquisas demonstram o potencial de cariofileno como

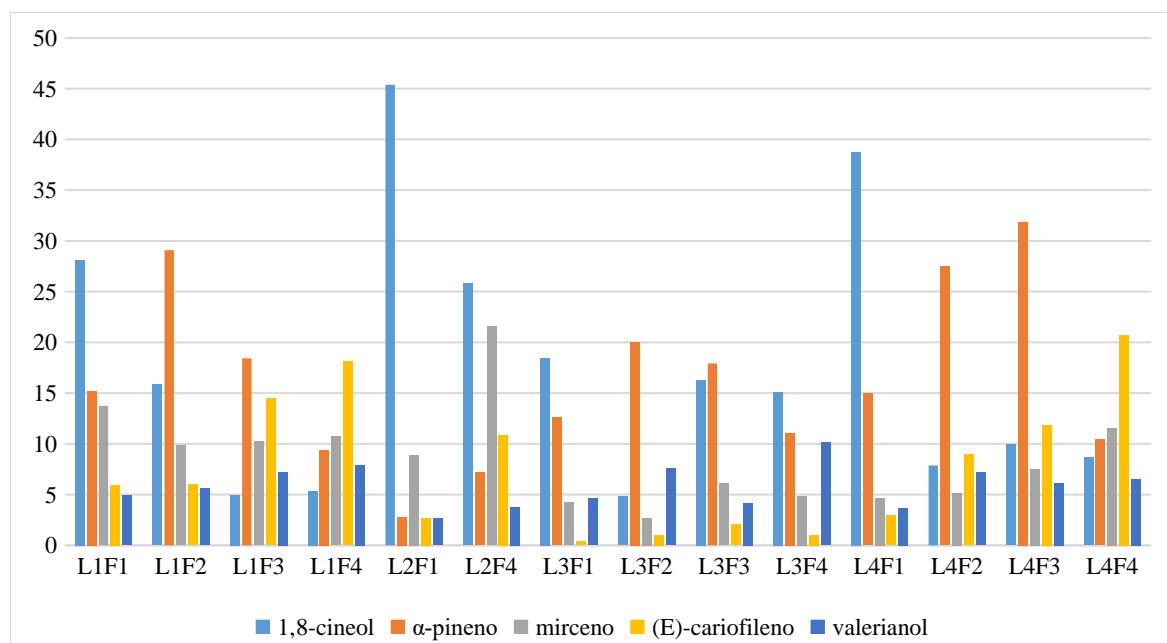
antiparasitária, citotóxica (LEITE et al., 2013) e antimicrobiana (COUTINHO et al., 2015). Na agricultura, Huang et al. (2011) descreve que o (E)-cariofileno pode desempenhar múltiplos papéis de defesa contra patógenos que invadem tecidos florais, ao mesmo tempo que pode ser usado como atração de polinizadores.

O hidrocarboneto p-cimeno foi registrado apenas no local Morro Grande nas fases de frutificação (33,4%) e floração (19,0%), caracterizando a influência do local na produção deste componente químico (Figura 9). Este hidrocarboneto apresenta-se como potencial terapêutico, contendo inúmeras aplicações. Sua ação é relacionada principalmente por ser o precursor do carvacrol (SIANI et al., 1999). Silva et al. (2010) descrevem que atividades antimicrobianas não são possíveis com a utilização de apenas um composto químico, mas sim pela interação de compostos majoritários com compostos minoritários. Os autores relatam que a interação sinérgica de p-cimeno e carvacrol, por exemplo, pode atuar como antimicrobiano, pois p-cimeno facilita o transporte de carvacrol por meio da membrana citoplasmática para o interior da célula bacteriana. Pombo et al. (2018) descrevem que a utilização combinada desses componentes químicos em óleos essenciais, pode servir também como substituto natural de aditivos químicos em alimentos. O p-cimeno é considerado um importante intermediário nas indústrias farmacêuticas, sendo utilizado também na produção de fungicidas, pesticidas e como agente aromatizante (SELVARAJ et al., 2002). Outros estudos demonstram a utilização desse composto pode atuar como antinociceptivo, anti-inflamatório (SANTANA et al., 2011; BONJARDIM et al., 2012), antioxidante e neuroprotetor (OLIVEIRA et al., 2015).

O hidrocarboneto aromático presente no *P. cattleianum*, influência no aroma que a planta possui. Conforme Luximon-Ramma, Bahorun e Crozier (2003), a espécie *P. cattleianum* é descrita como uma das mais aromáticas dentro do gênero, possuindo mais aroma que *P. guajava*, que é muito utilizada na indústria pela presença de hidrocarbonetos aromáticos.

Dentre os compostos majoritários presentes no morfotipo vermelho, 1,8-cineol, α-pineno, (E)-cariofileno também foram detectados no morfotipo amarelo, no entanto, α-eudesmol e p-cimeno não foram considerados compostos majoritários, visto que estes apresentaram porcentagens ínfimas, variando em torno de 0,05% a 2,34%. Desse modo, considerou-se mirceno e valerianol, que se mostram em quantidades superiores e apareceram em todas as amostras analisadas (Figura 10).

Figura 10 – Compostos majoritários encontrados em plantas de *Psidium cattleianum*, morfotipo amarelo, em diferentes locais e fases fenológicas.



*L1F1 – Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e queda foliar; L1F2 – Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais; L1F3 – Estação Experimental da Epagri, floração; L1F4 – Estação Experimental da Epagri, frutificação; L2F1 – Morro Grande; folhas velhas e queda foliar; L2F4 – Morro Grande, frutificação; L3F1 – Bom Retiro; folhas velhas e queda foliar; L3F2 – Bom Retiro, folhas novas e botões florais; L3F3 – Bom Retiro, floração; L3F4 – Bom Retiro, frutificação; L4F1 – Pedras Brancas; folhas velhas e queda foliar; L4F2 – Pedras Brancas, folhas novas e botões florais; L4F3 – Pedras Brancas, floração; L4F4 – Pedras Brancas, frutificação.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

No gráfico dos compostos majoritários para o morfotipo amarelo, o local Morro Grande nas fases de folhas novas e botões florais e floração não são apresentados, visto que a quantidade de óleos essenciais foi inferior ao necessário para realização da análise no GC. Nos compostos majoritários do morfotipo amarelo 1,8-cineol, assim como no morfotipo vermelho a fase de folhas velhas e queda foliar foi importante para a produção deste composto nos 4 locais de coletas, Morro Grande (45,5%), Pedras Brancas (38,8%) e Estação Experimental da Epagri (28,1%), e Bom Retiro (18,43%). As fases fenológicas de folhas novas/botões florais e frutificação tiveram importância na produção do monoterpeno α-pineno, sendo que os locais Estação Experimental da Epagri apresentou 29,08% (L1F2) e 18,42% (L1F3), Bom Retiro com percentuais de 20,05% (L3F2) e 17,92% (L3F3) e também para Pedras Brancas com 27,48% (L4F2) e 31,83% (L4F3). Com relação ao composto (E)-cariofileno sua presença foi detectada em maiores percentuais na fase de frutificação para 3 locais, Pedras Brancas (20,72%), Epagri (18,84%) e em Morro Grande (10,87%).

Para os compostos majoritários do morfotipo amarelo que diferiram dos presentes no morfotipo vermelho, verificou-se que componente químico mirceno teve uma variação entre as fases fenológicas nos diferentes locais de coleta, sendo as maiores quantidades encontrado no Morro Grande ao longo da frutificação (21,6%), na Estação Experimental da Epagri na coleta de folhas velhas (13,7%) e floração (10,2%), e em Pedras Brancas na frutificação (11,6%). Esse composto apresenta efeitos anti-inflamatórios e anti-catabólitos nos condrócitos humanos, com capacidade para deter ou abrandar destruição de cartilagem e progressão de osteoartrite (RUFINO et al., 2015). De acordo com Ciftci, Oztanir e Cetin (2014), o mirceno possui ação como neuroprotetor após danos oxidativos e neuronais. Bonamin et al. (2014) descreve que mirceno pode ser utilizado também para prevenção de gastrite e úlcera.

O composto valerianol foi registrado em menor quantidade, mas estando presente em todas as amostras do araçazeiro amarelo, em maior quantidade em Bom Retiro (10,14%) Morro Grande (4,62%), no período na frutificação e na fase de floração para Epagri (7,9%) e Pedras Brancas (6,55%). O Composto é comumente encontrado em espécies como *Valeriana officinalis* e *Eugenia riedeliana*, e pode apresentar diferentes porcentagens dependendo da espécie estudado. No entanto, poucos são os estudos acerca dos benefícios deste, relatam-se apenas os efeitos sinérgicos destes com outros compostos químicos presentes em plantas medicinais (RAAL et al., 2005; SOUZA et al., 2010).

Medina et al. (2011) descrevem que os constituintes químicos do *P. cattleianum* possuem potencial nutracêutico e terapêutico. Os autores investigaram o extrato da fruta do aracá e relatam a presença de altos níveis de compostos fenólicos e carotenos, ácido ascórbico e antocianinas como constituintes minoritários. As espécies ricas em compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenos são associadas com propriedade biológicas, capazes de atuar como antimicrobiana, anticarcinogênico e antioxidante (MONDAL; KAUR, 2014; ROLEIRA et al., 2015). Além dos efeitos sobre o organismo humano, estudo realizado por Ebadollahi (2013) descreve os benefícios dos compostos presentes nos óleos essenciais da família das Myrtaceae para uso na agricultura como inseticidas naturais.

No estudo, percebe-se que os compostos são identificados em maior ou menor quantidade dependendo do local da coleta, tipo de morfotipo e fase fenológica. Outros autores relatam que morfotipos descritos na mesma espécie, podem apresentar diferentes compostos majoritários e em quantidades diferentes. Chaves et al. (2006) avaliando composição química do óleo essencial das folhas de dois morfotipos de sacaca (*Croton cajucara* Benth.), mostraram que a sacaca vermelha se obteve rendimento de 0,97%, enquanto que para a sacaca branca foi de 0,67%. A diferença é descrita também na quantificação desses compostos, onde

os compostos majoritários da sacaca branca foram linalol, beta-cariofileno e nerolidol, enquanto para a sacaca vermelho foi o 5-hidroxi-calameneno, linalol e delta-cadineno. Bimbiraité et al. (2008), investigando diferença sobre a composição química de quatro morfotipos de *Achillea millefolium* L. (branco, rosa, rosa profundo e vermelho), detectaram que o maior teor de flavonoides foi encontrado no morfotipo rosa profundo e o teor de óleo essenciais no morfotipo branco, sendo que teores foram encontrados em maior ou menor quantidade dependendo dos períodos de vegetação.

A identificação de compostos químicos é extremamente importante, pois esses são responsáveis por diversas ações e apresentam-se como alvo de indústria alimentícia, cosmética, perfumaria e farmacêutica (FELIPE; BICAS, 2017).

2.4.3 Substâncias voláteis nos óleos essenciais de *Psidium cattleianum*

2.4.3.1 Morfotipo vermelho

Na análise química do morfotipo vermelho as amostras oriundas da Estação Experimental da Epagri apresentaram Monoterpenos não oxigenados em maior quantidade (35,4%), entre as fases de folhas novas e botões florais, enquanto nos monoterpenos oxigenados maior quantidade foi na floração (32,9%). Os sesquiterpenos não oxigenados e oxigenados foram encontrados em quantidade superior na frutificação, sendo 20,9% e 24,7%, respectivamente do total da composição química presente na amostra. Os ésteres estiveram em maior concentração durante fase de folhas velhas/queda de foliar (0,11%) e para os hidrocarbonetos aromáticos foi significativo na fase de frutificação (2,2%) (Tabela 2).

No local Morro Grande, em Lages, maior quantidade dos monoterpenos não oxigenados foi detectado na formação de folhas novas e botões florais (33,2%) e para monoterpenos oxigenados na fase de folhas velhas e queda de foliar (70,2%). Sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados aparecem principalmente na fase de folhas novas e botões florais. Para éster e hidrocarboneto aromático, a frutificação foi a fase em que se apresentou a maior concentração (Tabela 2).

As coletas que foram realizadas na comunidade de Campo Novo, Município de Bom Retiro, a fase de folhas novas e botões florais apresentaram maior rendimento de monoterpenos não oxigenados (24,4%), enquanto que para o grupo dos monoterpenos oxigenados a maior concentração foi registrada na fase de folhas velhas e queda de folhas (57,4%). Já a fase de frutificação foi mais favorável para o percentual do grupo dos

sesquiterpenos não oxigenados e oxigenados. O grupo de ésteres foi registrado na fase de folhas velhas e queda foliar (0,70%) e o hidrocarboneto aromático foi observado durante a frutificação (2,2%) (Tabela 2).

Com relação as coletas realizadas na comunidade de Pedras Brancas em Lages, a fase fenológica de frutificação apresentou percentual superior nos monoterpenos não oxigenados (31,2%) e para os monoterpenos oxigenados com destaque para a fase de folhas velhas e queda de foliar (60,3%). Sesquiterpenos não oxigenados detectou-se em maior concentração na frutificação (22,7%), enquanto que para os sesquiterpenos oxigenados foi durante a fase de folhas novas e formação de botões florais (19,1%). Éster foi observado na fase de folhas velhas e queda de foliar (0,5%). Em hidrocarboneto aromáticos, a fase fenológica de frutificação foi detectada com a maior concentração (3,7%) (Tabela 4).

Tabela 4 – Composição química de óleos essenciais de folhas de *Psidium cattleianum*, do morfotipo vermelho, coletadas em diferentes locais e diferentes fases fenológicas.

| Fase fenólica | Grupos químicos | | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--------------|------------------------------------|
| | Monoterpeno não oxigenado (%) | Monoterpeno oxigenado (%) | Sesquiterpeno não oxigenado (%) | Sesquiterpeno oxigenado (%) | Éster (%) | Hidrocarboneto aromático (%) |
| Estação Experimental Epagri | | | | | | |
| FLV/QF | 19,54 | 40,4 | 6,71 | 17,4 | 0,3 | 2,2 |
| FLN/BF | 35,4 | 11,6 | 19,4 | 21,6 | 0,2 | 1,3 |
| FLO | 24,4 | 32,9 | 8,8 | 20,4 | 0,3 | 1 |
| FRUT | 28,9 | 17,3 | 20,9 | 24,7 | 0,1 | 2,2 |
| Morro Grande | | | | | | |
| FLV/QF | 9,5 | 70,2 | 2,85 | 11,7 | 0,9 | 0,8 |
| FLN/BF | 33,2 | 14,6 | 29,4 | 18,4 | 0,6 | 0 |
| FLO | 31,7 | 4,7 | 16 | 9,1 | 4 | 19 |
| FRUT | 22,5 | 5,6 | 13,72 | 14,2 | 4,8 | 33,4 |
| Bom Retiro | | | | | | |
| FLV/QF | 18,5 | 57,4 | 5,2 | 14,3 | 0,70 | 0,50 |
| FLN/BF | 24,4 | 44,9 | 8,4 | 16,3 | 0,5 | 1,6 |
| FLO | 19,4 | 17,5 | 15,1 | 15,1 | 0,5 | 0,3 |
| FRUT | 22 | 24,4 | 20,9 | 23,8 | 0,4 | 2,2 |
| Pedras Brancas | | | | | | |
| FLV/QF | 19,2 | 60,3 | 3,6 | 11,9 | 0,5 | 1 |
| FLN/BF | 30,8 | 29 | 14,6 | 19,1 | 0,4 | 0,7 |
| FLO | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| FRUT | 31,2 | 22,3 | 22,7 | 15,3 | 0,4 | 3,7 |

*FLV/QF: folhas velhas/queda foliar; FLN/BF: folhas novas/botões florais; FLO: floração; FRUT: frutificação; Valores apresentados em percentual (%).

De maneira geral, os óleos essenciais das plantas são constituídos majoritariamente por terpenos e seus derivados. Tais substâncias constituem-se como um extenso grupo de moléculas orgânicas produzidas como metabólitos secundários em plantas, para evitar injúrias promovidas por agentes externos (VIEGAS JÚNIOR, 2003; CORREIA et al., 2008).

2.4.3.2 *Morfótipo amarelo*

Os terpenos encontrados nos óleos essenciais oriundos das folhas do morfótipo amarelo de *P. cattleianum* também foram agrupados em monoterpenos não oxigenados, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos não oxigenados, sesquiterpenos oxigenados e hidrocarbonetos aromáticos. Para as folhas de *P. cattleianum* coletadas na Estação Experimental da Epagri, Lages, o monoterpeno não oxigenado apresentou-se superior na fase de folhas novas e botões florais (43,78%), enquanto a fase fenológica das folhas velhas e queda foliar foi superior em monoterpeno oxigenado (30,70%). Sesquiterpenos não oxigenados e oxigenados foram detectados em maior concentração na fase de frutificação. Hidrocarboneto aromático foi registrado em pequenas quantidades, sendo superior em folhas velhas e queda de foliar (0,37) (Tabela 3).

Com relação as amostras oriundas do local Morro Grande, coletadas nas fases de folhas novas/botões florais e floração, o rendimento de óleo extraído não foi suficiente para que se procedesse a leitura para identificação de sua composição química. Sendo assim, os maiores percentuais foram registrados para os monoterpenos não oxigenados durante a fase de frutificação (33,71%) e para monoterpenos oxigenados durante a fase de folhas velhas e queda de foliar (53,36%). O sesquiterpeno não oxigenado foi detectado em maior porcentagem no estágio de frutificação (14,92%), os sesquiterpenos oxigenados e os hidrocarbonetos aromáticos foram superiores na fase de folhas velhas e queda foliar, de acordo com os dados da Tabela 3.

As amostras deste morfótipo, oriundas da comunidade de Campo Novo, em Bom Retiro apresentaram, tanto para os grupos dos monoterpenos não oxigenados, quanto para os oxigenados teores superiores durante a fase de folhas velhas e queda foliar. Sesquiterpenos não oxigenados foram identificados em maior quantidade durante as folhas novas e botões florais (21,74%). A fase de frutificação apresentou maior concentração de sesquiterpenos oxigenados, enquanto para hidrocarbonetos aromáticos foi superior em folhas velhas e queda foliar (Tabela 3).

Os óleos essenciais de amostras oriundas da comunidade de Pedras Brancas, em Lages, apresentaram maior concentração do grupo de monoterpenos não oxigenados durante a floração (46,70%) e 48,8% da composição total na fase de folhas velhas/queda foliar foram monoterpenos oxigenados. Já a fase de frutificação mostrou maior concentração tanto para os sesquiterpenos não oxigenados (30,80%), quanto os sesquiterpenos oxigenados (16,76%) da composição total da amostra de óleo. Os hidrocarbonetos aromáticos foram detectados em maior quantidade durante a fase de folhas velhas e queda foliar (0,82%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Composição química de óleos essenciais de folhas de *Psidium cattleianum*, morfotipo amarelo, coletadas em diferentes locais e diferentes fases fenológicas.

| Fase fenológica | Grupos químicos | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------|
| | Monoterpeno não oxigenado (%) | Monoterpeno oxigenado (%) | Sesquiterpeno não oxigenado (%) | Sesquiterpeno oxigenado (%) | Éster (%) |
| Estação Experimental Epagri | | | | | |
| FLV/QF | 31,20 | 30,70 | 10,95 | 14,83 | 0,37 |
| FLN/BF | 43,78 | 17,08 | 16,61 | 11,05 | 0,24 |
| FLO | 31,93 | 6,2 | 30,86 | 14,4 | 0,08 |
| FRUT | 23,49 | 6,77 | 35,07 | 16,6 | 0,09 |
| Morro Grande | | | | | |
| FLV/QF | 18,21 | 54,36 | 4,14 | 11,87 | 2,23 |
| FLN/BF | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| FLO | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| FRUT | 33,71 | 32,59 | 14,92 | 7,93 | 0,15 |
| Bom Retiro | | | | | |
| FLV/QF | 46,98 | 23,92 | 2,93 | 13,22 | 2,34 |
| FLN/BF | 32,38 | 6,81 | 21,74 | 18,72 | 0,17 |
| FLO | 30,98 | 19,71 | 18,9 | 11,75 | 0,05 |
| FRUT | 22,01 | 17,96 | 12,79 | 24,09 | 0,05 |
| Pedras Brancas | | | | | |
| FLV/QF | 25,19 | 48,88 | 4,58 | 13,07 | 0,82 |
| FLN/BF | 37,35 | 12,88 | 21,12 | 15,96 | 0,15 |
| FLO | 46,70 | 15,45 | 20,03 | 12,76 | 0,22 |
| FRUT | 27,72 | 12,32 | 30,80 | 16,76 | 0,24 |

*FLV/QF: folhas velhas/queda foliar; FLN/BF: folhas novas/botões florais; FLO: floração; FRUT: frutificação; SAF: Sistema Agroflorestal. Valores apresentados em percentual (%).

2.4.3 Locais de coleta das folhas de araçazeiro

Sobre as diferenças observadas quanto aos locais de coleta, o grupo dos monoterpenos oxigenados tiverem maior teor de seus componentes no bairro Morro Grande durante a fase de folhas velhas e queda foliar, com 70,2% do percentual total de composição química das amostras dos morfotipos vermelho e 54,36% para as amostras dos morfotipos amarelo. Ainda sobre os terpenos, tiveram destaque os sesquiterpenos não oxigenados, entre os quais apresentaram os maiores valores no bairro Morro Grande durante a formação de folhas novas e botões florais, com percentual de 29,4% para o morfótipo vermelho, e 35,07% nas amostras de araçazeiro amarelo na Estação Experimental da Epagri durante a fase de frutificação. O grupo dos sesquiterpenos oxigenados apresentaram maiores índices nas amostras oriundas das espécies de araçazeiro vermelho localizados na Epagri durante o período de frutificação com 24,7% do total da composição, e em Bom Retiro para o mesmo estágio fenológico, apresentando 24,09% no araçazeiro amarelo.

Observando as diferenças encontradas entre os morfotipos selecionados, podemos corroborar com os dados de Chaves et al. (2006) e Araújo et al. (2014), que explanam que os compostos bioativos de plantas podem ter o conteúdo, atividade e estabilidade afetados por diversos fatores, tais como, região geográfica de plantio, as diferenças genéticas entre cultivares, diferenças entre os morfotipos da mesma espécie, maturação, tempo e condição de armazenamento, tipo de processamento, fatores ambientais entre outros.

Neste trabalho, além dos monoterpenos e sesquiterpenos, identificou-se a presença de ésteres e hidrocarbonetos aromático no morfótipo vermelho. Éster apresentou-se em maior quantidade em amostras oriundas do bairro Morro Grande, Lages, durante a frutificação (4,8%) e o composto aromático foi registrado com percentual de 33,4, também no mesmo local e fase fenológica. O morfótipo amarelo apresentou presença do hidrocarboneto aromático, como maior proporção nos óleos essenciais das amostras de Bom Retiro na fase de folhas velhas e queda foliar (2,34%).

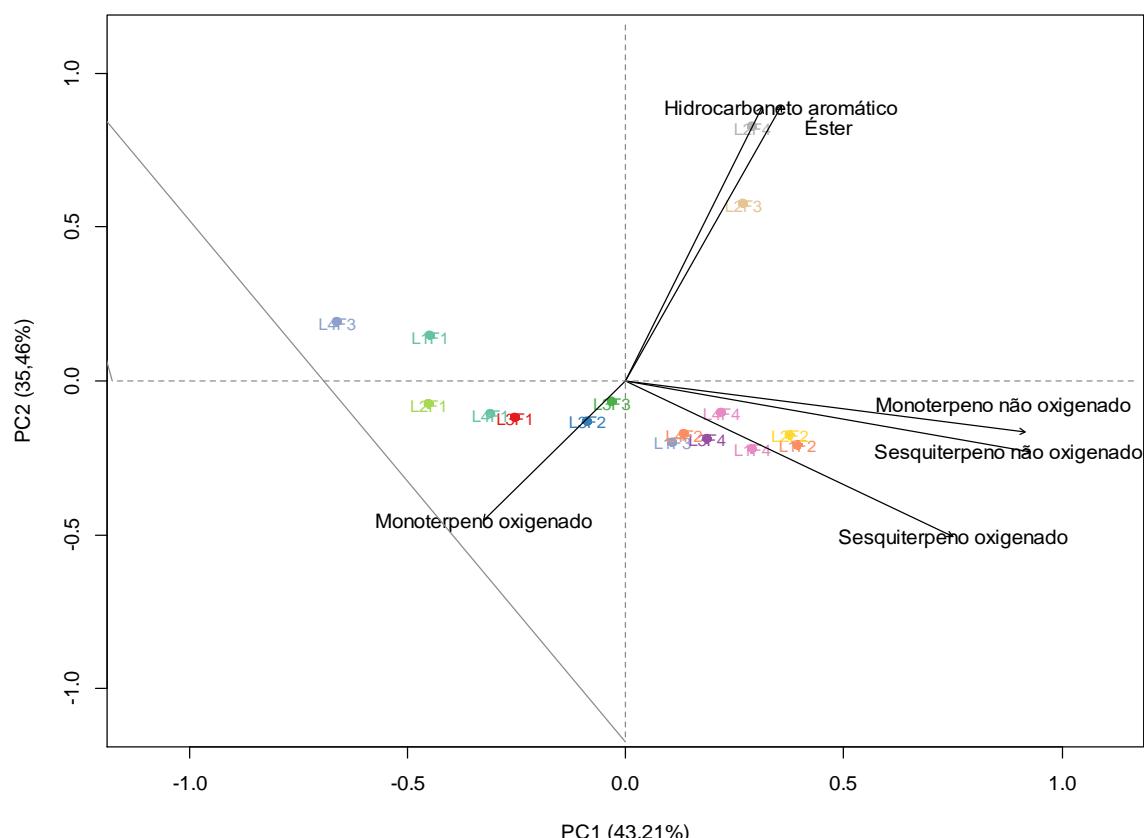
2.4.4 Fases fenológicas do araçazeiro

As diferenças em percentuais entre as fases fenológicas e seus respectivos locais de coleta para os dois morfotipos vermelho e amarelo, foram separadas por meio da Análise de

Componentes Principais (PCA), permitindo assim, maior visualização sobre as amostras obtidas.

Os dados para os óleos essenciais de araçazeiro vermelho e amarelo, presentes na Figura 11 e 12 representados por dois eixos, apresentaram 78,6% da variância total acumulada para ambos morfotipos, sendo que para o vermelho os eixos apresentaram os valores de PC 1: 43,2% e PC 2: 35,4%, enquanto que para o araçazeiro amarelo estes valores corresponderam a PC1: 40,68% e PC2: 37,92%. Esses valores indicam o percentual da variabilidade presente nos dados originais que é representada por meio dos dois primeiros componentes. Quanto maior o percentual da variabilidade explicada pelos componentes melhor é a resolução e menor será a perda de informações de dados na análise (MOITA NETO, 2004) (Figura 11).

Figura 11 – Análise de componentes principais (PCA) do óleo essencial de *Psidium cattleianum*, morfotipo vermelho.



*L1F1 – Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e queda foliar; L1F2 – Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais; L1F3 – Estação Experimental da Epagri, floração; L1F4 – Estação Experimental da Epagri, frutificação; L2F1 – Morro Grande; folhas velhas e queda foliar; L2F2 – Morro Grande, folhas novas e botões florais; L2F3 – Morro Grande, floração; L2F4 – Morro Grande, frutificação; L3F1 – Bom Retiro; folhas velhas e queda foliar; L3F2 – Bom Retiro, folhas novas e botões florais; L3F3 – Bom Retiro, floração; L3F4 – Bom Retiro, frutificação; L4F1 – Pedras Brancas; folhas velhas e queda foliar; L4F2 – Pedras Brancas, folhas novas e botões florais; L4F3 – Pedras Brancas, floração; L4F4 – Pedras Brancas, frutificação.

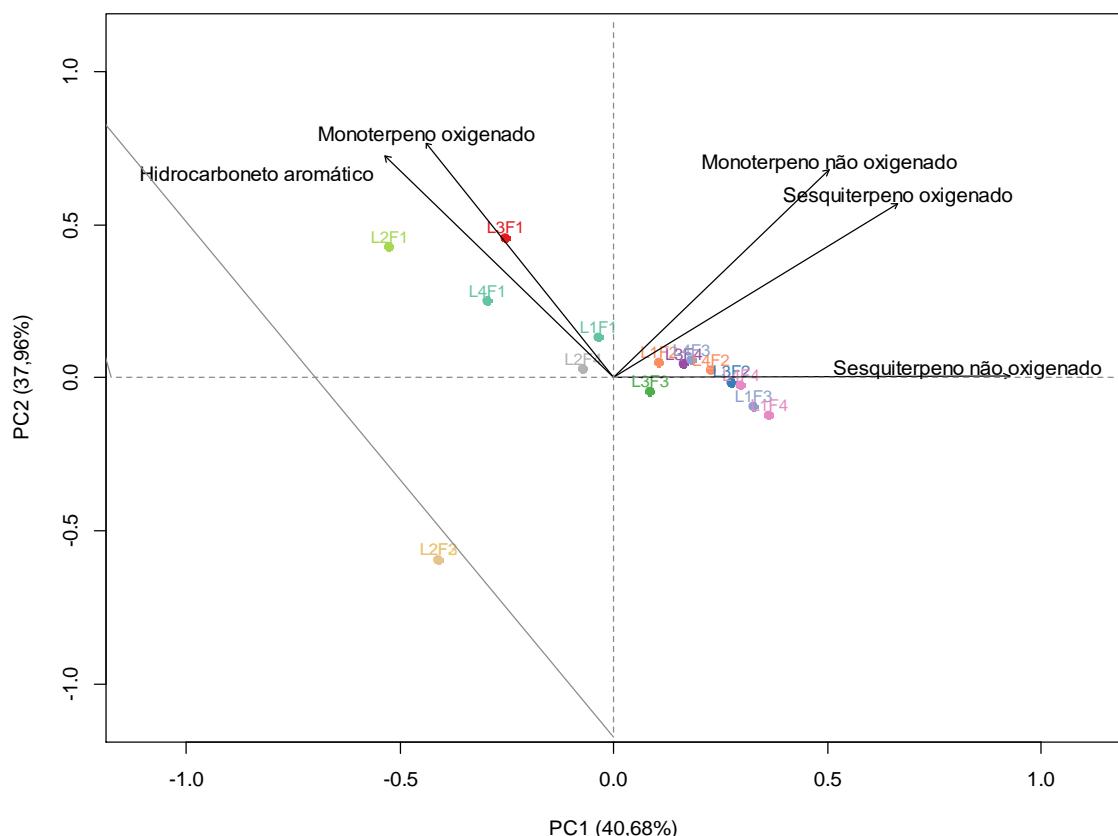
Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Observa-se que os grupos monoterpenos não oxigenados, sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados apresentam correlação positiva entre si, o que fica evidente pela proximidade dos vetores que representam os mesmos. As amostras L1F2 (Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais), L2F2 (Morro Grande, folhas novas e botões florais), L1F3 (Estação Experimental da Epagri, floração), L1F4 (Estação Experimental da Epagri, frutificação), L3F4 (Bom Retiro, frutificação) e L4F4 (Pedras Brancas, frutificação) apresentaram comportamento semelhante em relação as suas massas percentuais, ficando posicionadas no mesmo quadrante no gráfico, com maiores valores para o PC1 e menores valores para o PC2 (Figura 11).

De maneira contrária, pode-se observar a correlação negativa entre monoterpeno oxigenado com hidrocarboneto aromático e éster. As amostras L4F3 (Pedras Brancas, floração) e L1F1 (Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e queda foliar) apresentaram comportamento distinto das demais em relação ao percentual da massa dos grupos analisados. Quanto as amostras L2F3 (Morro Grande, floração) e L2F4 (Morro Grande, frutificação) se observa, também, um comportamento distinto das demais, apresentando um percentual maior dos grupos aromáticos e éster, o que pode ser evidenciado pelo fato dessas amostras estarem posicionadas na direção dos vetores desses grupos.

Os óleos essenciais extraídos das folhas do araçazeiro amarelo, apresentaram comportamento semelhante em relação ao araçazeiro vermelho, onde os percentuais dos monoterpenos não oxigenados, sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados apresentam, também, correlação positiva, evidenciado pelo posicionamento dos vetores que os representam (Figura 12).

Figura 12 – Análise de componentes principais (PCA) do óleo essencial de *Psidium cattleianum*, morfotipo amarelo.



*L1F1 – Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e queda foliar; L1F2 – Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais; L1F3 – Estação Experimental da Epagri, floração; L1F4 – Estação Experimental da Epagri, frutificação; L2F1 – Morro Grande, folhas velhas e queda foliar; L2F2 – Morro Grande, folhas novas e botões florais; L2F3 – Morro Grande, floração; L2F4 – Morro Grande, frutificação; L3F1 – Bom Retiro, folhas velhas e queda foliar; L3F2 – Bom Retiro, folhas novas e botões florais; L3F3 – Bom Retiro, floração; L2F4 – Bom Retiro, frutificação; L4F1 – Pedras Brancas, folhas velhas e queda foliar; L4F2 – Pedras Brancas, folhas novas e botões florais; L4F3 – Pedras Brancas, floração; L4F4 – Pedras Brancas, frutificação.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Para o araçá amarelo observa-se uma correlação positiva entre os componentes principais (monoterpenos não oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos não oxigenados), encontrados nas amostras L1F2 (Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais), L1F3 (Estação Experimental da Epagri, floração), L1F4 (Estação Experimental da Epagri, frutificação), L3F3 (Bom Retiro, floração), L3F4 (Bom Retiro, frutificação), L4F2 (Pedras Brancas, folhas novas e botões florais), L4F3 (Pedras Brancas e floração) e L4F4 (Pedras Brancas, frutificação). Ou seja, as amostras apresentam semelhanças em relação ao percentual de massas, sendo representados no mesmo quadrante do gráfico e apresentam o maior percentual encontrado no PC1 (40,68%).

No que diz respeito, aos componentes dos grupos dos monoterpenos oxigenados e dos hidrocarbonetos aromáticos, observa-se que os vetores estão posicionados de maneira

contrária, caracterizando diferenças nos percentuais de massas de seus compostos em relação aos monoterpenos não oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos não oxigenados, de maneira que os óleos essenciais das amostras L1F1 (Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e senescência), L2F1 (Morro Grande, folhas velhas e senescência), L2F4 (Morro Grande, frutificação), L3F1 (Bom Retiro, folhas velhas e senescência) e L4F1 (Pedras Brancas, folhas velhas e senescência) foram os que evidenciaram as maiores diferenças entre as massas.

Os monoterpenos não oxigenado e oxigenado apresentaram-se, para os dois morfotipos vermelho e amarelo, com os maiores percentuais para a maioria das fases fenológicas e locais, sendo que o monoterpenos não oxigenados destacaram-se na fase fenológica das folhas novas e formação de botão floral na Estação Experimental da Epagri, com 35,4% nos óleos extraídos do morfótipo vermelho e em Bom Retiro durante a fase de folhas velhas e queda foliar, com 46,98% para o amarelo.

2.5 CONCLUSÃO

Foram observadas diferenças na composição química dos óleos essenciais entre os morfotipos vermelho e amarelo de *Psidium cattleianum*, nas fases fenológicas e entre os locais de coleta das folhas de cada morfótipo para extração.

Quanto a quantificação dos compostos químicos observou-se diferenças entre os morfotipos vermelho de maneira que apresentou 32 componentes e o amarelo 21, os quais foram distribuídos em grupos de terpenos para melhor visualização gráfica.

Observou-se que alguns locais e fases exerceram maior influência no percentual da composição, de maneira foram registrados para o morfótipo vermelho 10 monoterpenos não oxigenados, com destaque para o local Epagri (35,4%) na fase de folhas novas/botões florais (FLN/BF); 4 monoterpenos oxigenados, com os maiores percentuais observados na fase de folhas velhas/queda foliar (FLV/QF), com destaque para Morro Grande (70,2%); 9 sesquiterpenos não oxigenados, onde os maiores valores foram observados na frutificação, nos locais Epagri (20,9%), Bom Retiro (20,9%) e Pedras Brancas (22,7%) e na fase de FLN/BF para o local Morro Grande (29,4%); 6 sesquiterpenos oxigenados, com maiores percentuais obtidos na fase de frutificação, destacando o local Epagri (24,7%), 1 éter (4,8%) e 1 hidrocarboneto aromático (33,4%), que foram observados apenas no local Morro Grande, na fase fenólica de frutificação, caracterizando a forte influência do local sobre estes compostos.

O morfotipo amarelo caracterizou-se por apresentar 6 monoterpenos não oxigenados, com maior concentração observada em Bom Retiro (46,98%) na fase de FLV/QF; 4 monoterpenos oxigenados e maiores percentuais sendo observados na fase de FLV/QF em Morro Grande (54,36%); 5 sesquiterpenos não oxigenados, com melhores registros na fase de frutificação, para o local Epagri (35,07%); 5 sesquiterpenos oxigenados, com três locais de coleta contribuindo para os maiores percentuais na fase de frutificação, com destaque para Bom Retiro (24,09%) e 1 hidrocarboneto aromático, que se apresentou com baixos percentuais, mas a fase de FLV/QD com o local Bom Retiro (2,34%) foi a mais expressiva.

O morfotipo vermelho apresentou como componentes químicos principais ou majoritários o 1,8-cineol com maiores percentuais registrados durante a FLV/QF, em Morro Grande (55,8%); α -pineno mostrou-se em maiores concentrações durante as coletas realizadas na fase de FLN/BF, na Epagri (18,4%); já as concentrações de α -eudesmol tiveram maior influência da fase de frutificação com maior percentual (8,8%) advindos de Bom Retiro, já para o (E)-cariofileno, a fase de frutificação também foi representativa, sendo que 3 locais foram importantes nesta fase, com maior percentual (10,9%) nas amostras coletadas na fase de FLN/BF no local Morro Grande, e o p-cimeno que foi registrado somente no local Morro Grande nas fases de FLN/BF (19%) na fase de frutificação (33,4%), com local exercendo maior influência para este componente químico.

Os morfotipos amarelos apresentaram como compostos majoritários, o 1,8-cineol com destaque para as coletas realizadas na fase de FLV/QF, e maiores percentuais no local Morro Grande (45,48%); α -pineno apresentou quantidade variável entre locais e fases, com maiores percentuais registrados em FLN/BF, para três locais de coleta, sendo que o maior percentual foi na fase de floração (31,83%) em Pedras Brancas; o (E)-cariofileno apresentou maiores percentuais na fase de frutificação, em Pedras Brancas (20,72%); o composto mirceno foi variável entre fases e locais, com expressiva concentração em Morro Grande (21,57%) na fase de FLN/BF, já o componente valerianol, apresentou os maiores percentuais durante fase de frutificação, advindos do local Bom Retiro (10,14%).

A detecção dos compostos α -felandreno, iso silvestreno, σ -terpineno, (E) β -ocimeno, butirato 1,4-pentenila, terpinoleno, gama σ -muruleno, α -cadineno, 3,7(11)-selinadieno, germacreno B e α -eudesmol foi possível somente no morfotipo vermelho.

Desse modo, é possível inferir que os morfotipos, assim como local de coleta e fase fenológica são fatores que podem influenciar na obtenção de um composto de interesse, portanto, o conhecimento do perfil cromatográfico pode auxiliar na identificação de plantas que podem ser utilizadas para diversos fins.

Pode-se concluir que o conhecimento do perfil químico dos óleos essenciais obtidos de folhas de *Psidum cattleianum* a partir de diferentes morfotipos, fases fenológicas e locais de coleta poderá influenciar o manejo de coleta de acordo com o objetivo pretendido e o composto químico requisitado.

3 CAPÍTULO 2 – OCORRÊNCIA DA MICROFLORA FÚNGICA EM SEMENTES DE FEIJÃO COMUM TRATADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS HOMEOPATIZADOS E HIDROLATOS DE FOLHAS DE *PSIDIUM CATTLEIANUM*

3.1 RESUMO

A associação entre patógenos e sementes permite a disseminação a longas distâncias, o que pode acarretar em resistência, com consequente aumento no uso de químicos sintéticos para o controle das doenças em sementes. Para tanto, existem uma variedade de atividades biológicas que podem ser testadas com produtos naturais e compostos sintéticos, avaliando os diferentes potenciais de uso. No estudo avaliou-se a ação biológica de óleos essenciais e hidrolatos em diferentes diluições, extraídos dos morfotipos vermelho e amarelo de plantas de *Psidium cattleianum*, nos seus diferentes estágios de desenvolvimento. Os tratamentos utilizados foram: T1) óleo essencial puro (30 µL); T2) óleo essencial 7CH; T3) óleo essencial 12CH; T4) hidrolato 10%; T5) hidrolato 30%; T6) controle com imersão em água destilada; T7) controle sem imersão em água destilada. Os óleos essenciais foram extraídos utilizando o método de hidrodestilação, a partir de folhas de araçazeiro localizados na comunidade rural de Predas Brancas, Município de Lages, Santa Catarina, coletadas em diferentes fases fenológicas, folhas velhas, folhas novas, floração e frutificação. Para preparação das soluções, os óleos 7CH e 12CH foram obtidos utilizando o método hannemaniano de dinamização. A diluição dos hidrolatos, subprodutos da extração dos óleos essenciais, foram obtidos utilizando água destilada, assim como para o óleo puro (30µL) e agitados por um período de 1 minuto. Para os testes de sanidade *in vitro* foi utilizado o delineamento experimental completamente casualizado com 7 tratamentos e 8 repetições para cada tratamento. A parcela experimental foi de 25 sementes em uma placa. As sementes permaneceram submersas durante 4 horas nas respectivas soluções e distribuídas em placas de Petri revestidas com filme e acondicionadas em câmara de germinação, durante 7 dias, com temperatura de 25° (+/- 2°) e fotoperíodo de 12 horas/luz e 12 horas/escuro. Após sete dias, realizou-se a contagem e identificação das colônias de fungos sobre as sementes, e quando necessário eram realizadas análises microscópicas. Os dados foram analisados com auxílio do ambiente R, à 5% de significância. No estudo, observou-se grandes variações de incidência dos patógenos nos tratamentos utilizados a partir de cada fase de coleta para os dois morfotipos. Para os tratamentos obtidos a partir dos morfotipos vermelhos, com relação aos patógenos *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum lindemuthianum* não foi observada diferenças estatísticas entre as fases fenológicas por tratamento, exceto na testemunha sem imersão em que as fases de folhas velhas (2,5%) e frutificação (3,5%) apresentaram os maiores índices do primeiro e testemunhas com (2%) e sem (2,5%) imersão na fase folhas velhas e hidrolato 10% (1,5%) em floração para o segundo patógeno. No caso do *Penicillium* sp. os menores índices foram observados no tratamento hidrolato 30% na fase de frutificação (1%) e testemunha com imersão na fase de folhas novas (0%). Em bactérias, a fase de frutificação se mostrou promissora, nos tratamentos de óleo 12CH, óleo puro e hidrolato 30%, onde os índices foram iguais a zero. No tratamento hidrolato 30%, a fase de folhas novas também apresentou valor igual a zero, assim como as testemunhas com e sem imersão nesta mesma fase fenológica. Para o patógeno *Rhizoctonia* spp., nenhuma diferença estatística foi observada nas fases fenológicas de cada tratamento. E para *Aspergillus flavus*, a fase de floração mostrou os menores índices deste patógeno para os tratamentos óleo 7CH (2,5%), óleo 12CH (5,0%), hidro 10% (3,0%), hidro 30% (1,0%), testemunha com (2,0%) e sem imersão (0%), mas não diferiu da fase de folhas novas para os tratamentos óleo 7CH (4%) e testemunha (0%), sendo que para o tratamento óleo puro, apresentou o menor índice (3,5%), nesta mesma fase. Já para

os tratamentos advindos dos morfotipos amarelos, no que se refere aos patógenos *F. oxysporum* e *C. lindemuthianum* todos os índices foram iguais ou muito próximos de zero, sem diferenças estatísticas. Com relação ao *Penicillium* sp. houve grande variação nos índices de incidência deste fungo, de modo que o menor percentual foi registrado no tratamento óleo 7CH (7%) na fase de floração, de maneira que sendo este, um patógeno de rápida proliferação, valores próximos ou iguais a zero seriam ideais para evitar maiores contaminações. Para as bactérias, os tratamentos que apresentaram os menores percentuais de colônias foram óleo 12CH nas fases de folhas velhas (6%), que não diferiu de floração (1,0%) e frutificação (4,0%), óleo puro em frutificação (3,5%), hidrolato 10% em folhas velhas (0%), hidrolato 30% na fase de folhas velhas (12%) sem diferenças com a frutificação (11,5%) e testemunhas com imersão na fase de folhas velhas (4,67%) e sem imersão (0%) na floração. Quanto ao patógeno *Fusarium solani*, os tratamentos apresentaram os menores percentuais de controle com índices variando entre os tratamentos óleo 7CH na fase de folhas novas (2,0%) e hidrolato 30% (5,33%) para a mesma fase. No que se refere ao patógeno *Rhizoctnia* spp. não foi observada nenhuma diferença estatística, sendo todos os valores iguais ou próximos de zero. *A. flavus* teve maior controle com tratamentos óleo 12CH, com menor índice em frutificação (16,5%), hidrolato 10%, também em frutificação com 13,0% de incidência, hidrolato 30%, folha novas (12,0%) e testemunha sem imersão para as fases de floração (10,5%) e frutificação (12,0%), não diferindo de folhas novas (5,33%). Houve grande variação no número de colônias e estas foram responsáveis pelas diferentes respostas encontradas entre os tratamentos de óleos essenciais e hidrolatos. Desta forma, a fase fenológica mostrou grande importância na obtenção dos tratamentos, sendo que podem ativar melhor resposta antifúngica nas sementes de feijão.

3.2 INTRODUÇÃO

O feijão comum é considerado importante fonte de proteína e, em combinação com o arroz, compõe a refeição básica diária para a grande maioria dos brasileiros (LOVATO et al., 2018; BARBOSA, 2007). O feijoeiro comum tem, ainda, importância econômica e social pois é cultivado por pequenos e médios agricultores e tem expressiva área de produção no Brasil, ocorrendo três safras em um mesmo ano civil (CONAB, 2016). Com produção estimada em 3,3 milhões de toneladas, o feijão apresentou um crescimento de 1,7% em 2018 se comparado a 2017, atendendo as perspectivas de consumo, que estava prevista em 3,1 milhões de toneladas (IBGE, 2019). Isto faz do Brasil um dos maiores produtores e consumidores de feijão comum do mundo.

Porém, alguns problemas podem afetar a produção e a qualidade dos grãos para sementes em safras subsequentes (OLIVEIRA et al., 2011). A qualidade das sementes de feijoeiro depende de uma série de atributos, entre quais inclui-se os fatores genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos. Destes, pode-se dizer que a qualidade fisiológica é um dos atributos com maior foco nos trabalhos de pesquisa científica, sendo que esta condição irá expressar toda o potencial de uma semente em germinar, garantindo o desenvolvimento da planta (SANTOS et al., 2007). A baixa qualidade fisiológica da semente e por consequência uma germinação desuniforme, interfere diretamente no desenvolvimento inicial de plântulas e no estande final (CARVALHO et al., 2011).

Patógenos ocorrentes na cultura a campo podem ser veiculados pelas sementes e serem disseminados nas próximas safras ou afetarem a própria qualidade da semente em seu poder germinativo e vigor (SILVA et al., 2008). Da mesma forma, Almeida et al. (2017) abordam que a introdução de sementes geneticamente modificadas implicou no aumento do uso de agrotóxicos, pois estes interferem sobre a resistência de doenças e pragas nas culturas. Com o uso demasiado de agrotóxico, preocupa-se também em relação aos resíduos que permanecem alojados nas sementes, causando contaminação ambiental e riscos à saúde (GOUVÊA et al., 2015; MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2017).

Assim, a qualidade sanitária é motivo de preocupação na produção de sementes, visto que fatores de interferência podem levar a grandes perdas na produtividade. No caso do feijoeiro, a patogenesia advém 50% de agentes causais transmitidos através das sementes, portanto o controle fitossanitário neste período é extremamente relevante (MARINO et al., 2008).

Entre os patógenos associados a doenças do feijoeiro encontram-se o gênero *Colletotrichum*, que é transmitido para as plântulas via sementes e é causador de uma doença altamente destrutiva, a antracnose (MACHADO; LANGERAK; JACCOUD-FILHO, 2002). Outros patógenos, mesmo que secundários, associados às sementes poderão causar danos de deterioração às sementes durante o armazenamento. Benício et al. (2003), avaliando a presença de fungos do gênero *Aspergillus* em amostras de sementes de feijão armazenadas em diversos locais do Estado da Paraíba, verificaram diferenças significativas na incidência desse fungo conforme a procedência das amostras. O método mais eficaz na redução da disseminação dos agentes causais via sementes é a completa isenção das mesmas de toda estrutura propagativa, como micélios, esporos e formas de resistência (GOULART, 1998). A utilização de sementes isentas de patógenos, ou seja, a qualidade sanitária das sementes estaria garantida se as mesmas estivessem livres de quaisquer micro-organismos que ponha em risco a germinação e vigor das mesmas. Isto se tornaria praticamente impossível, visto que essa condição é determinada por uma série de fatores com destaque as condições climáticas ideais tanto para produção e armazenamento (GOULART, 1998).

Portanto, técnicas de intervenção no tratamento de sementes têm sido usadas a fim de minimizar possível presença de propágulos viáveis de patógenos (HENNING, 2005). No tratamento convencional de sementes para controle de patógenos utiliza-se fungicidas organo-sintéticos. No entanto, mesmo com a eficiência desses tratamentos, preocupa-se com a atuação desses agrotóxicos na qualidade das sementes. Assim, buscam-se alternativas não residuais, que resultem em maior preservação ambiental e produtos de melhor qualidade para os consumidores (SOYLU; KURT; SOYLU, 2010; MEDEIROS et al., 2013).

Determinados extratos de plantas contêm óleos essenciais com compostos de diferentes grupos funcionais e polaridade, mostrando-se promissores no tratamento de doenças em plantas (MIRANDA et al., 2016). A utilização de extratos de plantas com propriedades antimicrobianas e antifúngicas é uma alternativa de base ecológica que pode substituir, senão no todo, parte dos fungicidas, como o propósito de controle de doenças em sementes (MEDEIROS et al., 2013; SARMENTO-BRUM et al., 2014). Essas substâncias possuem como principais constituintes os monoterpenos e sesquiterpenos, incluindo os hidratos de carbono, fenóis, álcoois, éteres, aldeídos e cetonas, responsáveis por atividade biológica e fragrância em diversas espécies. Os compostos fenólicos presentes nos óleos essenciais são, também, relatados como atuadores antimicrobianos e antifúngicos (HILLEN et al., 2012; NUZHAT; VIDYASAGAR, 2013).

Os óleos essenciais tem como característica a aromatização por compostos voláteis que pode estar temporariamente imerso em água conhecidos como hidrolatos (MOURA et al., 2014). Os hidrolatos são subprodutos resultante da extração dos óleos essenciais e apresentam em sua composição importantes metabólitos do vegetal de origem (BASER; BUCHBAUER, 2012). Embora apresente componentes fitoquímicos importantes, são poucos os trabalhos de pesquisa sobre uso dos hidrolatos na agricultura. Entre estes podemos citar o trabalho sobre atividade fungitóxica dos hidrolatos de algumas plantas medicinais, realizado por Rodrigues et al. (2011). Moura et al. (2014) relatam atividade antimicrobiana e indutora de fitoalexinas do hidrolato de carqueja (*Baccharis trimera*). Lozano et al. (2000) relataram também a inibição no desenvolvimento dos fungos *Botrytis alli* e *Sclerotium cepivorum* por hidrolatos de alho (*Allium sativum*) e cebola (*Allium cepivorum*). Franzener et al. (2007) relatam o potencial antifúngico, antibacteriano e indutor de fitoalexinas por hidrolatos de *Helietta apiculata* (canela-de-veado), *Conyza canadensis* (buva) e *Cymbopogon nardus*.

Considerando as atividades antifúngicas e antibacterianas de óleos essenciais descritas, o objetivo do estudo foi avaliar a redução da microflora fúngica em sementes de feijão tratadas com óleos essenciais a diferentes diluições e hidrolatos obtidos de folhas de *Psidium cattleianum*.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Homeopatia e Saúde Vegetal, localizado na Estação Experimental da Epagri de Lages, em Lages, Santa Catarina. O trabalho iniciou em julho de 2017, quando foram realizadas as primeiras coletas de folhas de araçazeiro (*Psidium cattleianum*) para extração de óleos essenciais, e finalizou em novembro de 2018, com a última avaliação dos ensaios *in vitro* na estimativa da incidência de fitopatógenos em sementes de feijão tratadas.

3.3.1 Coleta e extração dos óleos essenciais de *Psidium cattleianum*

Para obtenção dos óleos essenciais foram coletadas folhas de araçazeiro dos morfotipos araçá amarelo e araçá vermelho, oriundos de uma comunidade rural de Pedras Brancas, Município de Lages; uma comunidade de Campo Novo, Município de Bom Retiro; um quintal urbano no bairro Morro Grande, Município de Lages; e a Estação Experimental da Epagri em Lages. As fases fenológicas observadas e utilizadas como referência para as coletas

foram: Folhas velhas ou copa completa – FLV, Queda de folhas ou senescênci – QF, Folhas novas ou brotação – FLN, Botão Floral – BF, Floração – FLO e Frutificação – FRUT. Destacando que algumas fases se apresentaram de forma simultânea como a fase de FLV e QF e as fases de FLN e BF. Após coleta das folhas realizou-se extração dos óleos utilizando o processo de hidrodestilação (Capítulo 1, p. 34-36).

3.3.2 Concentração de hidrolatos e óleos essenciais

Os tratamentos utilizados nos experimentos para imersão das sementes de feijão foram: solução com óleo essencial ($30\mu\text{L}$), solução com hidrolato (15%), solução com hidrolato (30%), óleo essencial dinamizado (7CH), óleo essencial dinamizado (12 CH), testemunha com imersão em água destilada e testemunha sem imersão. Para compor a solução contendo óleo essencial concentrado, este foi diluído em uma concentração de $30\mu\text{L}$ por litro de água destilada e agitado durante 1(um) minuto.

O hidrolato, que é o resíduo resultante do processo de hidrodestilação, foi diluído em água destilada em a 15 e 30 %, respectivamente. Em seguida foram agitados, também, durante 1 minuto.

As dinamizações dos óleos essenciais de araçazeiros seguiram a metodologia descrita pela Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011), os quais necessitaram de uma trituração prévia, tendo em vista que os óleos essenciais são insolúveis em água. Para trituração foi utilizado a lactose para diluir e para agitar foi utilizado o movimento de triturar a substância com o pistilo de porcelana contra as paredes do recipiente gral de porcelana. A trituração foi realizada na proporção de 1% da substância ativa em lactose. No processo de trituração homeopática, a lactose é primeiramente dividida em 3 porções. Cada uma destas porções é depositada no gral de porcelana e triturada com movimentos circulares por um período de 6 (seis) minutos. Como a mistura da lactose com a substância fica fortemente aderida nas paredes do gral, é necessário raspar, com uma espátula, as paredes do gral, durante 4 (quatro) minutos fazendo com que a lactose possa ser novamente triturada, por mais 6 minutos, e novamente raspada. Após, adicionou-se o segundo terço da lactose e repetiu-se o procedimento. Em seguida, o terceiro terço da lactose e repetiu-se, pela última vez. Desta maneira, após 1 hora, obtemos a primeira trituração – centesimal – da substância. Fazendo isto mais uma vez (mais uma hora) e ainda outra vez (uma terceira hora), chegamos à terceira trituração centesimal da substância (3CH trit), que pode ser solubilizada em solução hidroalcoólica.

Para dinamizar a 3CH foi utilizado uma solução hidroalcoólica (álcool a 20 %) seguido de sucussão (movimentos de batida contra um anteparo semi-rígido para agitação) onde obteve-se a quarta centesimal hahnemanniana (CH4). E assim sucessivamente até a dinamização de dispensação como tratamento (7CH). Em seguida, novas diluições foram realizadas e 100 agitações até a obtenção da décima segunda centesimal hahnemanniana (CH12).

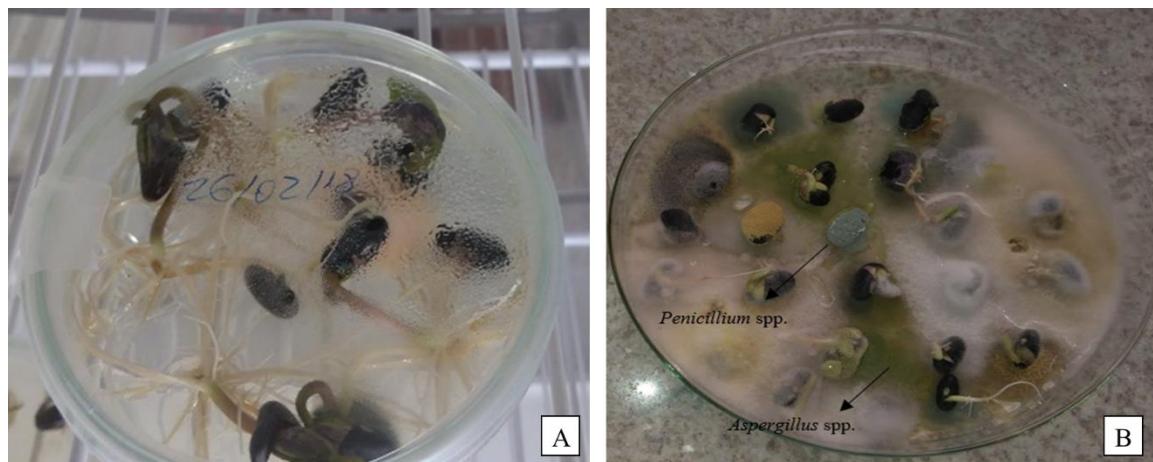
3.3.3 Tratamento das sementes

As sementes usadas nos experimentos eram do cultivar de feijão SCS204 Predileto oriundas da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Campos Novos, SC, da safra 2017/2018. Todas as sementes foram mantidas em câmara de baixa temperatura durante o período de montagem e realização dos experimentos.

Para determinação de patógenos presentes nas sementes de feijão, realizou-se teste piloto sem nenhuma intervenção de tratamento. Foram utilizadas 25 sementes com 12 repetições distribuídas em placas de petri e acondicionadas em incubadora BOD (Biochemical Oxygen Demand). No teste piloto foram realizadas análises sobre o tempo de imersão das sementes. Inicialmente foram seguidas metodologias a partir de literaturas (SILVA et al., 2012; SANTOS, 2014; DOMENE et al., 2016), sendo adaptado para melhor absorção da água no tegumento das sementes de feijão, determinando-se 4 horas como tempo ideal de imersão.

Os patógenos das sementes foram avaliados aos sete dias após montagem dos experimentos, sendo então registrados os fungos ocorrentes de *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium graminearum*, *Epicoccum* sp. e bactérias (Figura 13).

Figura 13 – Teste piloto realizado para determinação de patógenos em sementes de feijão. A) Placa de petri em BOD; B) Exemplo de microrganismos identificados. Lages, 2018.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A primeira etapa do experimento foi iniciada no mês de maio de 2018. Os óleos essenciais utilizados para os primeiros experimentos foram oriundos das extrações das folhas na fase fenológica de folhas velhas e senescência. Após lavagem e esterilização das placas de petri, limpeza e esterilização em câmara de fluxo laminar, realizou-se produção de meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), sendo elaborado com caldo de batata (200 gramas/litro de água) de batata inglesa, 20 gramas de dextrose e 20 gramas de ágar. O meio BDA foi acondicionado em vidros de Erlenmeyer de 250 ml e fechados com tampão de algodão e jornal, sendo em seguida autoclavados para maior esterilizar e homogeneização do meio. Após a esterilização, os meios foram vertidos para as placas em câmara asséptica, para evitar possíveis contaminações do meio.

O delineamento experimental foi completamente casualizado com 7 tratamentos e 8 repetições para cada tratamento. A parcela experimental foi de 25 sementes em uma placa. Os tratamentos utilizados foram: T1) óleo essencial puro; T2) óleo essencial 7CH; T3) óleo essencial 12CH; T4) hidrolato 10%; T5) hidrolato 30%; T6) controle com imersão em água destilada; T7) controle sem imersão em água destilada.

As sementes permaneceram em imersão nos tratamentos durante 4 horas, sendo estas dispostas em papel absorvente para distribuição em placas de petri. Em câmara de fluxo laminar, as sementes foram dispostas nas placas de petri, vedadas com fita e acondicionadas em BOD, durante 7 dias, com temperatura de 25° (+/- 2°) e fotoperíodo de 12 horas/luz e 12 horas/escuro (Figura 14).

Figura 14 – Sementes de feijão dispostas em placa de Petri, após tratamento sanitário com hidrolatos e óleos essenciais extraídos de folhas de *Psidium cattleianum*. Lages/SC, 2018.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

As avaliações foram realizadas sete dias após a montagem dos experimentos, por meio de avaliação visual e quando necessário utilizou-se microscópio óptico para confirmação do patógeno. Ao final do experimento determinou-se a incidência dos patógenos nas sementes de feijão (GINDRI, 2014; AIMI et al., 2016).

3.3.4 Análise de dados e estatística

Para determinação da incidência dos patógenos foi procedida a contagem do número de colônias em cada repetição (placa de petri) e em seguida determinado o percentual e a média.

Dados das variáveis do percentual de sementes germinadas e que apresentavam contaminação foram analisados estatisticamente com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2018). Foram ajustados os modelos, considerando as distribuições Normal, Normal com os dados transformada, Binomial e Quasibinomial. A seleção entre os modelos ajustados foi realizada considerando a análise gráfica de diagnóstico por meio dos gráficos de resíduos versus valores preditos e gráficos semi-normais com envelope de simulação. Após a seleção do modelo precedeu-se a análise de deviance e quando do efeito significativo, a comparação

entre as diferentes soluções foi realizada por meio da análise de contrastes disponível no pacote multicomp (HOTHORN; BRETZ; WESTFALL, 2008). As análises foram realizadas por meio do contraste de Tukey, considerando o nível de 5% de significância.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O maior percentual de colônias de fungos associados às sementes de feijão registrados no estudo foi atribuído a patógenos como *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia* spp. e o *Penicillium* spp., considerados de grande importância econômica para esta cultura (Tabela 6).

Tabela 6 – Incidência inicial registrada em sementes de feijão após tratamento com hidrolatos e óleos essenciais de *Psidium cattleianum*.

| Repetição | Patógeno | Nº de colônias |
|-----------|---------------------------------------|----------------|
| 1 | <i>Penicillium</i> sp | 1 |
| 1 | Bactéria spp | 2 |
| 2 | <i>Fusarium graminearum</i> | 1 |
| 2 | <i>Aspergillus</i> sp | 1 |
| 2 | Bactéria spp | 1 |
| 3 | <i>Colletotrichum lindemonthianum</i> | 1 |
| 3 | Bactéria spp | 2 |
| 4 | Fungos brancos | 2 |
| 4 | Bactéria spp | 1 |
| 5 | <i>Fusarium oxisporum</i> | 3 |
| 5 | Bactéria spp | 2 |
| 6 | <i>Fusarium oxisporum</i> | 2 |
| 6 | Bactéria sp | 3 |
| 7 | <i>Fusarium oxisporum</i> | 1 |
| 7 | Bactéria spp | 1 |
| 8 | <i>Fusarium oxisporum</i> | 4 |
| 8 | Bactéria spp | 4 |
| 9 | Bactéria spp | 4 |
| 10 | <i>Fusarium oxisporum</i> | 1 |
| 10 | Bacteria spp | 1 |
| 11 | Bactéria spp | 1 |
| 12 | <i>Epicocum</i> | 5 |

De acordo com Ito et al. (2003), para o aparecimento destes patógenos nas sementes de feijão, alguns fatores como aberturas nas superfícies das sementes causadas por dano mecânico durante a colheita nas práticas agrícolas ou injurias de insetos, transporte e

armazenamento, associados às condições de umidade e temperatura favorecem o desenvolvimento desses patógenos e podem acarretar perdas consideráveis ao agricultor.

Neste sentido, os ensaios biológicos permitem determinar o potencial de ação e atividade de compostos naturais ou sintéticos e, podem ser realizados no sentido de identificar quais os compostos extraídos a partir de plantas podem ser relevantes e promissores no controle dos patógenos associados às sementes.

A associação dos patógenos com as sementes é negativa devido aos danos que estes influem, afetando quantidade e qualidade de plântulas normais e posteriormente na produtividade do feijoeiro (SILVA et al., 2008). Essa forma de associação entre patógeno-semente permite o estabelecimento do patógeno e a disseminação a longas distâncias, o que pode acarretar na introdução de novas raças mais virulentas, levando ao aumento de químicos sintéticos como tratamento para esse controle (FERREIRA et al., 2017).

A avaliação das atividades biológicas é importante, uma vez que, os compostos naturais podem demonstrar diferentes potencial de controle (CANNELL, 1998). Para tanto, existem uma variedade de atividades biológicas que podem ser testadas com produtos naturais e compostos sintéticos. Assim, podem ser avaliadas as atividades relacionadas com doenças causadas por microrganismos tais como, por exemplo, atividade antibacteriana, antifúngica, antiparasitária e antiviral (MUKHTARA et al., 2008; ELDEEN et al., 2005). Assim, muitos experimentos têm demonstrado que a utilização de óleos essenciais extraídos a partir de plantas podem apresentar algum tipo de ação biológica sobre micro-organismos e/ou induzir resistência em sementes e plantas, substituindo desta forma, o uso de agroquímicos.

No estudo avaliou-se a ação biológica de óleos essenciais e hidrolatos em diferentes diluições, extraídos dos morfotipos vermelho e amarelo de plantas de *Psidium cattleianum*, nos seus diferentes estágios de desenvolvimento.

3.4.1. Morfotipo Vermelho

No estudo, observou-se grandes variações entre os patógenos identificados e os tratamentos aplicados dos óleos e hidrolatos de *Psidium cattleianum* para o morfotipo vermelho. As variações sobre patógenos pode ocorrer por inúmeras influências, tais como, temperatura e umidade de armazenamento (RANI et al., 2013), cultivar usada (PARSA et al., 2016) e os tratamentos para controle fitossanitário (BRITO et al., 2013; SARMENTO-BRUM et al., 2014).

Para o patógeno *Fusarium oxysporum* houve diferença estatística somente no tratamento testemunha sem imersão, onde a fase de folhas novas e floração diferiram das fases de folhas velhas e frutificação, que apresentaram incidência de 2,50% e 3,50%, respectivamente. A incidência de *Colletotrichum lindemunthianum* nas sementes de feijão foram baixas, assim como em *F. oxysporum*, havendo diferença somente no tratamento hidrolato 10%, sendo que a fase de floração (1,50%) diferiu de folhas novas e frutificação, mas não de folhas velhas, bem como, no tratamento testemunha sem imersão, sendo registrado incidência apenas na fase de folhas velhas (2,50%), que diferiu dos demais, com incidência nula (Tabela 7).

O fungo *Penicillium* sp. foi encontrado em maior incidência entre os tratamentos e fases fenológicas. Para o tratamento óleo 7CH, a fase de folhas novas apresentou maior incidência (27,5%) em relação à fase de floração (11,5%), folhas novas (7,50%) e frutificação (4,50%), que não diferiram entre si. Para o tratamento óleo 12CH a fase de floração (29,0%) diferiu dos demais tratamentos, que apresentaram maior controle do patógeno. No tratamento óleo puro, a fase de floração apresentou alta incidência do fungo (56,5%), diferindo nas demais fases fenológicas avaliadas. O hidrolato 10% da fase de folhas novas apresentou maior eficiência, diferindo dos demais que variaram entre 24,0% e 25,0%. O tratamento hidrolato 30% na fase de floração (27,5%) diferiu da fase de folhas velhas (7,50%) e frutificação (1,00%), mas não da fase de folhas novas (22,5%). Na testemunha com imersão, o patógeno foi registrado em maior incidência na fase de floração (73,0%), que diferiu dos demais tratamentos, sendo que a fase de folhas velhas (15,5%) diferiu também da fase de folhas novas, que não apresentou patógeno. Na testemunha sem imersão, a fase de folhas novas (58,0%) e floração (56,0%) diferiram da fase de folhas velhas (7,00%) e frutificação (21,0%), que apresentaram menor incidência (Tabela 7).

Para as bactérias, somente o tratamento óleo 7CH não apresentou diferenças estatísticas entre as fases fenológicas. No tratamento óleo 12CH a maior incidência foi registrada na fase de folhas velhas (48,5%), que diferiu dos demais, sendo que a fase de folhas novas (12,0%) também diferiu de frutificação (0,00%), que se mostrou o mais eficiente para controle de bactérias. No tratamento óleo puro a maior incidência ocorreu na fase de folhas novas (64,0%), diferindo dos demais. A fase de frutificação, assim como, no óleo 12CH, não apresentou incidência, o que diferiu de floração (7,00%) e folhas velhas (13,0%). No hidrolato 10%, a fase de floração (53,5%) e folhas novas (38,8%), diferiram dos demais tratamentos que apresentaram menor incidência. O hidrolato 30%, apresentou maior índice na fase de floração (63,5%), diferindo dos demais. A testemunha com imersão exibiu menor incidência

nas fases de folhas novas (0,00%) e floração (2,00%), diferindo das fases de folhas velhas (21,5%) e frutificação (17,0%). Na testemunha sem imersão, somente a fase de frutificação (31,5%) diferiu dos demais tratamentos (Tabela 7).

Com relação ao patógeno *Rhizoctonia* sp., os tratamentos não mostraram diferenças estatísticas entre si (Tabela 7).

Para o controle de *Aspergillus flavus* todos os tratamentos apresentaram diferenças entre as fases fenológicas. O tratamento óleo 7CH, apresentou maiores incidências nas fases de folhas velhas (49,5%) e frutificação (46,0%), diferindo das demais fases. Para o óleo 12CH, na fase de folhas velhas registrou-se maior incidência (60,0%), o que diferiu dos demais tratamentos, sendo que a fase de floração (5,00%) apresentou menores índices, diferindo da fase de folhas novas (8,50%) e frutificação (17,0%). O óleo puro foi mais eficiente na fase de folhas novas (3,50%), diferindo de folhas velhas (33,8%) e frutificação (34,0%), mas não de floração (11,0%). Para o hidrolato 10%, a menor incidência do patógeno ocorreu para a fase de floração (3,00%), que diferiu de todos os demais, sendo que a fase de folhas velhas (41,5%) apresentou a maior incidência, que também diferiu dos outros tratamentos. No hidrolato 30%, a fase de folhas velhas (76,0%) registrou a maior incidência do fungo, diferindo dos demais tratamentos, onde a floração (1,00%) apresentou maior eficiência, diferindo da fase de frutificação (34,5%), mas não de folhas novas (5,00%). Na testemunha com imersão, a menor incidência ocorreu na fase de folhas novas (0,00%) e floração (2,00%), o que diferiu estatisticamente da fase de folhas velhas (19,5%) e da frutificação (34,5%). Na testemunha com imersão, a floração (0,00%) diferiu das demais (Tabela 7).

Tabela 7 - Microrganismos identificados nas sementes de feijão para cada fase fenológica analisada, após imersão em óleo essencial e hidrolato de *Psidium cattleianum*, morfotipo vermelho.

| Fases fenológicas | Tratamentos | | | | | | |
|--------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|--------------------------|
| | Óleo 7CH | Óleo 12CH | Óleo puro | Hidrolato 10% | Hidrolato 30% | Testemunha (com imersão) | Testemunha (sem imersão) |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | | | | | | | |
| FLV | 4,00 ± 1,90 a | 1,75 ± 0,96 a | 1,75 ± 0,81 a | 1,25 ± 0,60 a | 2,50 ± 1,02 a | 1,50 ± 0,73 a | 2,50 ± 1,30 a |
| FLN | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 b |
| FLO | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 b |
| FRU | 2,50 ± 1,30 a | 1,50 ± 1,05 a | 1,50 ± 1,05 a | 0,50 ± 0,50 a | 1,00 ± 0,65 a | 0,00 ± 0,00 a | 3,50 ± 1,18 a |
| <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> | | | | | | | |
| FLV | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 1,00 ± 0,58 a | 0,50 ± 0,34 ab | 0,50 ± 0,34 a | 2,00 ± 1,51 a | 2,50 ± 1,05 a |
| FLN | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 b |
| FLO | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 1,50 ± 0,73 a | 1,00 ± 0,65 a | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 b |
| FRU | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 b | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 b |
| <i>Penicillium</i> sp. | | | | | | | |
| FLV | 7,50 ± 1,71 b | 8,25 ± 1,81 b | 11,6 ± 1,88 b | 4,50 ± 1,26 b | 7,50 ± 2,50 bc | 15,5 ± 2,06 b | 7,00 ± 2,36 b |
| FLN | 27,5 ± 3,81 a | 9,00 ± 3,76 b | 11,5 ± 1,92 b | 24,0 ± 9,17 a | 22,5 ± 7,89 ab | 0,00 ± 0,00 c | 58,0 ± 4,16 a |
| FLO | 11,5 ± 3,50 b | 29,0 ± 11,5 a | 56,5 ± 5,63 a | 25,0 ± 4,52 a | 27,5 ± 4,44 a | 73,0 ± 24,4 a | 56,0 ± 19,9 a |
| FRU | 4,50 ± 4,50 b | 12,0 ± 4,78 b | 6,00 ± 2,27 b | 24,0 ± 4,54 a | 1,00 ± 1,00 c | 14,5 ± 2,61 b | 21,0 ± 4,77 b |
| Bactéria | | | | | | | |
| FLV | 25,2 ± 2,63 a | 48,5 ± 1,93 a | 13,0 ± 2,72 b | 38,8 ± 3,50 a | 14,5 ± 2,85 b | 21,5 ± 4,09 a | 1,00 ± 0,65 b |
| FLN | 19,5 ± 5,93 a | 12,0 ± 4,66 b | 64,0 ± 6,00 a | 19,0 ± 4,52 b | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 b |
| FLO | 22,5 ± 6,28 a | 8,00 ± 4,54 bc | 7,00 ± 2,80 bc | 53,5 ± 5,34 a | 63,5 ± 10,2 a | 2,00 ± 1,15 b | 9,00 ± 3,42 b |
| FRU | 12,5 ± 3,66 a | 0,00 ± 0,00 c | 0,00 ± 0,00 c | 12,0 ± 3,93 b | 0,00 ± 0,00 b | 17,0 ± 4,52 a | 31,5 ± 4,56 a |

(continuação)

| | <i>Rhizoctonia</i> spp. | | | | | |
|-----|----------------------------------|---------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| FLV | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FLN | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FLO | 0,00 ± 0,00 a | 1,00 ± 0,65 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FRU | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| | <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i> | | | | | |
| FLV | 49,5 ± 6,06 a | 60,0 ± 4,98 a | 33,8 ± 4,38 a | 41,5 ± 3,34 a | 76,0 ± 4,99 a | 19,5 ± 5,93 a |
| FLN | 4,00 ± 1,07 b | 8,50 ± 3,58 b | 3,50 ± 1,18 b | 16,5 ± 7,54 b | 5,00 ± 2,90 bc | 0,00 ± 0,00 b |
| FLO | 2,50 ± 1,05 b | 5,00 ± 2,90 c | 11,0 ± 2,24 ab | 3,00 ± 1,65 c | 1,00 ± 0,65 c | 2,00 ± 1,15 b |
| FRU | 46,0 ± 7,17 a | 17,0 ± 5,06 b | 34,0 ± 2,39 a | 18,5 ± 5,65 b | 19,5 ± 5,58 b | 34,5 ± 2,50 a |

* FLV - Folhas velhas e queda foliar; FLN - Folhas novas e botões florais; FLO – Floração; FRU – Frutificação.

**valores são médias, seguidas de desvio padrão das medias;

***Valores seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo contraste de Tukey a 5%.

No estudo, percebe-se grande variação entre os tratamentos e fases fenológicas na incidência dos fungos, não sendo possível distinguir apenas um tratamento com maior eficiência que possa abranger todos os fungos. De acordo com Viegas et al. (2005) existe grande variabilidade na população do fungo quanto à sensibilidade de óleos essenciais. Os autores apontam em seus experimentos que houve inibição relativa com o emprego de óleos essenciais de bulbilho de alho e casca de canela para o fungo *A. flavus*, mas sempre com variação nos resultados. Essa ação pode ser explicada pelo rompimento da barreira de permeabilidade da membrana plasmática, pois quando o tratamento não consegue romper a barreira para iniciar a ação antifúngica, o patógeno não pode ser controlado (TIAN et al., 2012). Gupta, Sharma e Naik (2011) apontam que as concentrações utilizadas para inibição de fungos também é um fator importante, que pode mostrar-se efetivo ou não, dependendo do fungo, tempo de exposição e concentração empregada.

3.4.2. Morfotipo Amarelo

Verificou-se que para o morfotipo amarelo de *Psidium cattleianum* grande variação na incidência, do mesmo modo que registrado para o morfotipo vermelho.

No que se refere ao patógeno *Fusarium oxysporum*, não houve diferença estatística entre os tratamentos, onde todos apresentaram o mesmo comportamento nas diferentes fases fenológicas, com percentuais de incidência muito baixos e valores próximos a zero, variando entre 3,5% a 0%. Comportamento semelhante foi encontrado para os tratamentos utilizados no controle de *Colletotrichum lindemunthianum*, com índices que variaram entre 1,33% e 0,00% (Tabela 8).

Para o fungo *Penicillium* sp., todos os tratamentos testados apresentaram diferenças estatísticas. No tratamento óleo 7CH, a fase de frutificação (18,0%), diferiu apenas da fase de floração (7,00%). No óleo 12CH, as fases de folhas velhas (26,7%), folhas novas (14,7%) e floração (18,0%) apresentaram os menores índices percentuais diferindo da frutificação (74,0%), onde registrou-se maior incidência do fungo. Para o óleo puro, a maior incidência foi detectada na fase de folhas velhas (64,0%), diferindo dos demais tratamentos que variaram de 14% a 18%. No tratamento hidrolato 10%, a fase de folhas velhas (28,7%) diferiu apenas da fase de floração (10,0%). Já no hidrolato 30% a fase de folhas novas (59,3%) apresentou maior incidência do fungo, diferindo dos demais tratamentos que variaram de 15,5% a 26,0%. No tratamento testemunha com imersão, a fase de frutificação (21,5%) diferiu apenas da fase

de folhas novas (11,3%), mas não dos demais tratamentos. Na testemunha sem imersão, a maior incidência foi registrada na fase de folhas velhas (38,7%), diferindo dos demais tratamentos, que variaram de 8,00% a 18,5% (Tabela 8).

Para o controle de bactérias, no tratamento óleo 7CH, a fase de frutificação (58,0%) diferiu das fases de folhas velhas (19,3%) e folhas novas (25,3%), mas não da fase de floração (37,0%). Para o óleo 12CH, a fase de folhas novas (38,0%) apresentou maior incidência, diferindo dos demais tratamentos que variaram entre 1,00% a 6,00%. No óleo puro, apenas a fase de frutificação (3,50%) diferiu da floração (29,0%), e não dos demais tratamentos. Para o hidrolato 10%, os tratamentos de maior eficiência foram na fase de folhas velhas (0,00%) e fase de frutificação (8,00%), diferindo da fase de folhas novas (35,3%) e floração (27,0%). Já para o hidrolato 30% a fase de folhas novas (39,3%), diferiu de folhas velhas (12,0%) e frutificação (11,5%), mas não da fase de floração (22,5%). A testemunha com imersão apresentou menor incidência nas fases de folhas velhas (4,67%), folhas novas (12,7%) e floração (19,5%), diferindo da frutificação (39,0%), que apresentou maior incidência. Na testemunha sem imersão, a fase de frutificação (57,0%) e folhas novas (38,7%) diferiram apenas da fase de floração (0,00%), mas não da fase de folhas velhas (27,3%) (Tabela 8).

Para o controle de *Fusarium solani*, no tratamento óleo 7CH, a fase de folhas novas (2,00%) diferiu das fases de floração (0,00%) e frutificação (0,00%), mas não da fase de folhas velhas (0,67%). No hidrolato 10% a fase de folhas novas (5,33%) diferiu da fase de folhas velhas e floração, que apresentaram índices iguais a zero na incidência. Para o óleo 12CH e óleo puro, hidrolato 30% e em ambas as testemunhas, não houve diferença estatística entre os tratamentos analisados (Tabela 8).

Com relação ao patógeno *Rhizoctonia* spp., os tratamentos não mostraram diferenças estatísticas entre si, variando entre a incidência de 1,50% a 0,00%.

Para o controle de *Aspergillus flavus* os tratamentos óleo 7CH, óleo puro e testemunha com imersão não houve diferença estatística. No tratamento óleo 12CH, maior incidência foi registrada na fase de frutificação (16,5%), diferindo dos demais tratamentos que variaram de 4,00% a 1,00%. No hidrolato 10% a maior incidência ocorreu também na fase de frutificação (13,0%), diferindo dos demais tratamentos, com variação de 6,00% a 3,50%. No hidrolato 30% a fase de folhas novas (12,0%) diferiu das fases de folhas velhas (1,33%) e floração (1,50%), mas não da fase de frutificação (6,00%). Na testemunha sem imersão a fase de folhas velhas (0,00%) diferiu da fase de floração (10,5%) e frutificação (12,0%), mas não da fase de folhas novas (5,33) (Tabela 8).

Tabela 8 - Microrganismos identificados nas sementes de feijão para cada fase fenológica analisada, após imersão em óleo essencial e hidrolato de *Psidium cattleianum*, morfotipo amarelo.

| Fases fenológicas | Tratamentos | | | | | | |
|--------------------------------------|----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|--------------------------|
| | Óleo 7CH | Óleo 12CH | Óleo puro | Hidrolato 10% | Hidrolato 30% | Testemunha (com imersão) | Testemunha (sem imersão) |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | | | | | | | |
| FLV | 0,67 ± 0,67 a | 0,67 ± 0,67 a | 2,00 ± 0,89 a | 0,00 ± 0,00 a | 3,33 ± 1,23 a | 1,33 ± 1,33 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FLN | 2,67 ± 1,98 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,67 ± 0,67 a | 1,33 ± 0,84 a |
| FLO | 2,00 ± 0,76 a | 1,50 ± 1,05 a | 3,50 ± 1,18 a | 2,50 ± 1,30 a | 1,50 ± 0,73 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FRU | 0,50 ± 0,50 a | 1,50 ± 0,73 a | 3,00 ± 1,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 1,50 ± 0,73 a | 1,50 ± 0,73 a | 0,50 ± 0,50 a |
| <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> | | | | | | | |
| FLV | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FLN | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 1,33 ± 0,84 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a |
| FLO | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FRU | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a |
| <i>Penicillium</i> sp. | | | | | | | |
| FLV | 14,7 ± 3,68 ab | 26,7 ± 2,46 b | 64,0 ± 4,62 a | 28,7 ± 7,11 a | 26,0 ± 4,23 b | 19,3 ± 1,61 ab | 38,7 ± 5,63 a |
| FLN | 12,0 ± 3,10 ab | 14,7 ± 2,86 b | 18,0 ± 5,54 b | 16,0 ± 5,06 ab | 59,3 ± 5,40 a | 11,3 ± 3,78 b | 13,3 ± 5,12 b |
| FLO | 7,00 ± 1,25 b | 18,0 ± 3,21 b | 14,0 ± 4,21 b | 10,0 ± 2,62 b | 15,5 ± 2,06 b | 16,5 ± 1,91 ab | 8,00 ± 2,61 b |
| FRU | 18,0 ± 2,00 a | 74,0 ± 6,46 a | 17,0 ± 3,61 b | 24,0 ± 3,70 ab | 17,0 ± 3,00 b | 21,5 ± 1,99 a | 18,5 ± 3,29 b |
| Bactéria | | | | | | | |
| FLV | 19,3 ± 5,00 b | 6,00 ± 2,88 b | 20,7 ± 7,62 ab | 0,00 ± 0,00 b | 12,0 ± 5,75 b | 4,67 ± 2,62 b | 27,3 ± 4,31 ab |
| FLN | 25,3 ± 5,02 b | 38,0 ± 5,81 a | 15,3 ± 4,31 ab | 35,3 ± 6,80 a | 39,3 ± 2,17 a | 12,7 ± 3,64 b | 38,7 ± 8,68 a |
| FLO | 37,0 ± 7,16 ab | 1,00 ± 0,65 b | 29,0 ± 6,75 a | 27,0 ± 5,11 a | 22,5 ± 5,60 ab | 19,5 ± 3,81 b | 0,00 ± 0,00 b |
| FRU | 58,0 ± 9,16 a | 4,00 ± 2,13 b | 3,50 ± 2,32 b | 8,00 ± 2,61 ab | 11,5 ± 3,15 b | 39,0 ± 5,84 a | 57,0 ± 11,9 a |
| <i>Fusarium solani</i> | | | | | | | |
| FLV | 0,67 ± 0,67 ab | 0,67 ± 0,67 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 b | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a |
| FLN | 2,00 ± 0,89 a | 1,33 ± 1,33 a | 0,00 ± 0,00 a | 5,33 ± 1,97 a | 2,00 ± 2,00 a | 1,33 ± 0,84 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FLO | 0,00 ± 0,00 b | 0,50 ± 0,50 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 b | 1,50 ± 1,05 a | 1,00 ± 0,65 a | 1,00 ± 1,00 a |
| FRU | 0,00 ± 0,00 b | 1,50 ± 1,05 a | 0,50 ± 0,50 a | 1,50 ± 1,05 ab | 1,00 ± 0,65 a | 2,00 ± 1,06 a | 0,00 ± 0,00 a |

(continuação)

| | <i>Rhizoctonia</i> spp. | | | | | | |
|-----|----------------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| FLV | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FLN | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,67 ± 0,67 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FLO | 0,50 ± 0,50 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 1,00 ± 1,00 a | 1,50 ± 0,73 a | 0,00 ± 0,00 a |
| FRU | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,50 ± 0,50 a | 0,00 ± 0,00 a |
| | <i>Aspergillus</i> <i>flavus</i> | | | | | | |
| FLV | 3,33 ± 1,23 a | 4,00 ± 1,46 b | 4,00 ± 2,07 a | 4,00 ± 1,46 b | 1,33 ± 0,84 b | 2,67 ± 0,84 a | 0,00 ± 0,00 b |
| FLN | 5,33 ± 2,23 a | 4,00 ± 1,46 b | 3,33 ± 2,17 a | 6,00 ± 1,71 b | 12,0 ± 4,73 a | 4,00 ± 1,78 a | 5,33 ± 1,33 ab |
| FLO | 9,00 ± 5,69 a | 1,00 ± 0,65 b | 2,00 ± 1,06 a | 3,50 ± 1,59 b | 1,50 ± 1,05 b | 5,50 ± 1,29 a | 10,5 ± 2,61 a |
| FRU | 8,50 ± 2,97 a | 16,5 ± 3,58 a | 1,00 ± 0,65 a | 13,0 ± 1,96 a | 6,00 ± 2,00 ab | 5,00 ± 1,25 a | 12,0 ± 3,20 a |

* FLV - Folhas velhas e queda foliar; FLN - Folhas novas e botões florais; FLO – Floração; FRU – Frutificação.

**valores são médias, seguidas de desvio padrão das medias;

***Valores seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo contraste de Tukey a 5%.

Assim como no morfotipo vermelho, o controle dos patógenos também apresentou grande variação entre os tratamentos e fases fenológicas. Diversos autores dispõem que a atuação fitossanitária pode estar relacionada com a sensibilidade destes compostos sobre determinado microrganismo, o que pode afetar seu desenvolvimento ou auxiliar no crescimento micelial (ROSADO et al., 2009; SOUSA; SERRA; MELO, 2012; SARTO; ZANUSSO JUNIOR, 2014).

Outros tratamentos alternativos são propostos para o controle do fungo, entretanto, envolvendo principalmente a utilização de extratos de plantas, como à base de boldo-da-terra (SILVA et al., 2008), alho (BRAND et al., 2010) e canela (VENTUROSO et al., 2011).

Alguns estudos demonstram a utilização de óleos essenciais e a ação desses contra diferentes patógenos. Hillen et al. (2012) descrevem que os óleos essenciais de alecrim, candeia e palmarosa inibiram o crescimento micelial de *Rizoctonia solani*, ocorrendo a partir de certas concentrações. Morais e colaboradores (2008), investigando o efeito de óleos essenciais de manjericão (*Ocimum* sp.), dois tipos de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* e *C. citratus*) e melaleuca (*Melaleuca* sp.) sobre a germinação e sanidade de sementes de feijão, descrevem que o óleo essencial de *C. citratus* reduziu o percentual de germinação das sementes, no entanto, foi eficaz para redução tanto de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Silva, Oliveira e Diniz (2012) demonstram que utilizando óleo essencial de *Mentha arvensis* L. na concentração de 100 µL, foi eficiente para inibir o crescimento dos fungos estudados, sendo entre estes a espécie *Penicillium rubrum*, no entanto, outras concentrações não inibem o crescimento micelial destes.

No caso dos hidrolatos, poucas são as pesquisas encontradas para controle fitopatogênico em plantas (FRANZENER et al., 2007). Lavabre (2005) descreve que os hidrolatos são produtos resultantes da extração do óleo essencial, e apresentam, na maioria das vezes, compostos voláteis hidrossolúveis com grande quantidade de princípios ativos como ácidos, aldeídos e aminas. No estudo, percebe-se que em diversos momentos os hidrolatos tiveram atuação no controle dos patógenos analisados. No entanto, maiores estudos são necessários com a utilização destes.

3.5 CONCLUSÕES

Os resultados dos testes biológicos sugerem que ocorrem grandes variações entre a ação dos tratamentos oriundos de material coletado em diferentes épocas do ciclo da planta (fases fenológicas) e os patógenos identificados.

Desta forma, sugere-se que o uso de araçazeiro como fornecedor de óleos essenciais para o tratamento de patógenos associados as sementes é dependente das condições ambientais em que a planta se encontra, do seu local de origem e do estágio fenológico em que a planta se encontra.

Verificou-se também que mesmo que em baixas incidências, houve variações no número de colônias e estas foram responsáveis pelas diferentes respostas entre os tratamentos de óleo e hidrolato. Desta forma, a fase fenológica mostrou grande importância na obtenção dos tratamentos, sendo que podem ativar melhor resposta antifúngica nas sementes de feijão.

Os óleos essenciais e hidrolatos podem serem utilizados na agricultura como alternativos ao controle fitossanitário em sementes, porém há necessidade de mais estudos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a importância de muitas espécies nativas para a biodiversidade, manutenção das espécies e pela disposição do uso como alimentícias e medicinais, o estudo sobre o potencial terapêutico da espécie nativa *Psidium cattleianum* mostra-se de grande importância. Esta espécie, apesar de amplamente distribuída no estado de Santa Catarina, consta de reduzidas informações, principalmente, acerca de sua estrutura química e potencial de ação dos metabólitos secundários entre os dois principais morfotipos que representam a espécie.

Na pesquisa, alguns trabalhos já descreveram diferenças entre os morfotipos vermelho e amarelo de *Psidium cattleianum*, e estas, vão além apenas de diferenças na coloração dos frutos, podendo citar, como por exemplo diferenças anatômicas na casca, no caule e na composição química de diferentes partes desta planta.

As diferenças na composição química, percentuais dos componentes no perfil dos óleos essenciais e potencial de ação biológica do araçazeiro foram evidenciados no nosso trabalho, assim como em outros que avaliaram por meio de análises químicas e testes biológicos os diferentes morfotipos desta planta.

Estudos identificaram nos testes a eficácia da espécie de araçá como medicinal, revelando um potencial de ação antioxidant e antimicrobiano, com destaque para a ação biológica em bactérias, fungos e vírus, além da atuação como hepatoprotetor, analgésico, citoprotetora, doenças das vias urinárias e disenteria. No entanto, dada a grande quantidade de publicações em relação ao potencial e importância dos óleos voláteis das Myrtaceae, vale ressaltar que no Brasil, a pesquisa ainda encontra-se incipiente, quando se trata de composição e estrutura química de espécies nativas, onde apenas 1% destas estão sendo utilizadas para suprir as demandas das indústrias farmacêutica e de perfumaria.

Óleos essenciais das mais variadas espécies de plantas já foram testados, mostrando que existem uma grande variabilidade na população dos patógenos quanto a sua sensibilidade, apresentando diferentes respostas. O controle de muitos patógenos de importância agrícola foi testado no tratamento fitossanitário de sementes e muitos autores demonstraram que a aplicação de óleos essenciais de plantas aromáticas em diferentes concentrações tem promovido efeito positivo no controle e incidência de patógenos, bem como efeitos positivos na resposta biológica de tais plantas. O controle de patógenos e doenças em plantas, utilizando os óleos essenciais com comprovada atividade biológica, com reduzida ou nula

toxicidade, apresenta-se como importante alternativa prática na produção ecológica dos sistemas agrícolas. Isto porque, os componentes naturais provenientes das espécies nativas, medicinais, aromáticas e condimentares, podem ser uma opção para o controle de doenças em plantas, que são na maioria sistêmicos e de fácil degradação.

A identificação de estruturas químicas em plantas aromáticas como os monoterpenos e sesquiterpenos nas diferentes fases fenológicas e locais de coleta tem uma contribuição importante como promissores no controle antimicrobiano, anticancerígeno e antioxidante, conforme relatado pelas pesquisas.

As variações nos resultados sobre a ação biológica atribuídos pelo uso de óleos essenciais em diferentes concentrações dependerão de diversos fatores, que devem ser levados em consideração no estudo e na escolha do manejo mais correto para a cultura agrícola alvo do trabalho. O estudo da ação biológica dos óleos em espécies agrícolas, sua interferência e a relação entre estas, poderá favorecer a obtenção de plantas com melhor potencial, o que possibilitará a utilização de óleos essenciais com composição química mais estável e resultados mais confiáveis quanto ao potencial de uso e ação biológica. Neste sentido, os estudos mostram que a indução de resistência em plantas e sementes é um fator importante que merece ser estudado, substituindo o uso de agroquímicos.

Os resultados desta pesquisa corroboram com muitos estudos que demonstraram a influência do ambiente na qualificação e quantificação do perfil químico de óleos essenciais de plantas nativas, mostrando variações em função das condições de coleta (fases fenológicas) e locais de origem. Essas variações podem comprometer a qualidade dos óleos e consequentemente o potencial de uso, como o antimicrobiano, por exemplo. Portanto é necessário que estes aspectos relacionados às condições de coleta sejam preservados, em função do objetivo pretendido no uso do óleo e a substância química de interesse.

Como os óleos essenciais são produzidos por um organismo vivo, sujeito a várias alterações, é imprescindível alguns cuidados, como observar, sempre que possível, o histórico da planta (como o local, horário e época de coleta, temperatura, pluviosidade e estádio de desenvolvimento, dentre outros), variedade da espécie em estudo, pois estes fatores poderão influenciar o perfil químico, e consequentemente o potencial da planta na atividade biológica sobre algum patógeno ou alguma outra categoria de ação.

A pesquisa em plantas nativas e medicinais com objetivo de uso como defensivos, é uma área que apresenta amplas, novas e importantes possibilidades de descobertas, porém, devem ser realizados mais estudos para que se obtenham resultados mais conclusivos. Da mesma maneira, é necessário que haja a implantação de experimentos nas condições naturais

(*in vivo*) utilizando os óleos essenciais, ainda incipiente se comparado com a quantidade dos ensaios *in vitro* publicados.

A composição química das plantas necessita ser conhecida. Existem milhares de moléculas que ainda precisam ser descritas, as quais podem servir de modelo, gerando produtos de baixo custo, eficazes, ambientalmente seguros, padronizados, registrados, com controle de qualidade e que atendam às demandas da agricultura.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**. 3 ed. Pennsylvania State University: Allured Pub. Corporation, 2011. 456 p.

AIMI, S. C. et al. Teste de sanidade e germinação em sementes de *Cabralea canjerana* (Vell.). **Ciência Florestal**, v. 26, n. 4, p. 1361-1370, 2016.

ALHO, C. J. R. Importância da biodiversidade para a saúde humana: uma perspectiva ecológica. **Estudos Avançados**, v. 26, n. 74, p. 151-165, 2012.

ALMEIDA, V. E. S. et al. Uso de sementes geneticamente modificadas e agrotóxicos no Brasil: cultivando perigos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3333-3339, 2017.

ALVARENGA, F. Q. et al. In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 280-284, 2013.

ALVES, C. C. F. et al. Atividade antiproliferativa dos óleos essenciais de três plantas do Cerrado brasileiro: *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), *Protium ovatum* (Burseraceae) e *Cardiopetalum calophyllum* (Annonaceae). **Brazilian Journal of Biology**, ahead of print, p. 1-5, 2019.

AMARAL, R. D. A. Essential elements, oil and protein contents of sunflower hybrids grown in Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 1-10, 2018.

AMORATI, R. et al. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835-10847, 2013.

AOYAMA, Y.; ARAKI, Y.; KONOIKE, T. Stereoselective total synthesis of (-)- α -Eudesmol, a P/Q-Type calcium channel blocker. **Synlett**, n. 9, p. 1452-1454, 2001.

APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, p. 1–20, 2016.

ARAÚJO, W. M.C. et al. **Alquimia dos Alimentos**. 3^a ed. Brasília: Senac Distrito Federal, 2014. 310 p.

AYDIN, E.; TÜRKEZ, H.; GEYKOĞLU, F. Antioxidative, anticancer and genotoxic properties of α -pinene on N2a neuroblastoma cells. **Biología**, v. 68, n. 5, p. 1004-1009.

BANDONI AL, CZEPAK MP. **Os recursos aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores**. 1 ed. Vitoria: EDUFES, 2008. 624 p.

BARBOSA, L. Feijão com arroz e arroz com feijão: o Brasil no prato dos brasileiros. **Horizontes Antropológicos**, v. 13, n. 28, p. 87-116, 2007.

BARBOSA, L.C.A. et al. Seasonal Variation in the Composition of Volatile Oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p.1959 -1965, 2007.

BASCOLO, O. H. Para comer, para beber ou para remédio? Categorias de uso múltiplo em Etnobotânica. **Cadernos UniFOA**, v. 8, n. 1, p. 61-67, 2013.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils**: science, technology, and application. 1. ed. Florida: CRC Press, 2012. 991 p.

BENÍCIO, V. et al. Identificação e características culturais de espécies do gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 180-183, 2003.

BERG, J. M. T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 545p.

BERNARDES, C. O. et al. Importância dos óleos essenciais da família Myrtaceae e seus efeitos inseticidas: uma revisão de literatura. In: **XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica**, p. 1-6, 2017.

BEZERRA, J. E. F. et al. Araçá. In: **Frutas Nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 42-62, 2006.

BIEGELMEYER, R. et al. Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) strawberry guava fruit. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 991–996, 2011.

BIMBIRAITÉ, K. Comparison of the chemical composition of four yarrow (*Achillea millefolium* L.) morphotypes. **Biologija**, v. 54, n. 3, p. 208-212, 2008.

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

BOMFIM, D. S. et al. Eudesmol isomers induce caspase-mediated apoptosis in Human hepatocellular carcinoma HepG2 Cells. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 113, p. 300-306, 2013.

BONJARDIM, L. R. et al. Evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive properties of p-Cymene in Mice. **Zeitschrift Fur Naturforschung C**, v. 67, p. 15-21, 2012.

BORÉM, F. M. Controle de fungos presentes no ar e em sementes de feijão durante armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 651-659, 2006.

BOSCOLO, O. H. Para comer, para beber ou para remédio? Categorias de uso múltiplo em Etnobotânica. **Caderno UniFOA**, v. 1, n. 1, p. 61-67, 2013.

BOUND, D. J.; MURTHY, P. S.; SRINIVAS, P. 2,3-Dideoxyglucosides of selected terpene phenols and alcohols as potent antifungal compounds. **Food Chemistry**, v. 210, p. 371-380, 2016.

BRAND, S. C. et al. Extratos de alho e alecrim na indução de faseolina em feijoeiro e fungitoxicidade sobre *Colletotrichum lindemuthianum*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, p. 1881-1887, 2010.

BRASIL. **Farmacopeia homeopática brasileira**. 3. ed. São Paulo: Andrei, 2011.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 17 de 18 de junho de 2014**. Aprova o Regulamento Técnico para os sistemas orgânicos de produção animal e vegetal. Brasília, 2014. Disponível em:
<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-17-de-18-de-junho-de-2014.pdf/view>. Acesso em: 19 abr. 2019.

BRITO, R. et al. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) produzidas sob manejo orgânico e submetidas ao congelamento. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 3, p. 131-140, 2013.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. 1. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S. A., 1991. 594 p.

BONAMIN, F. et al. The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: The role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 212, p. 11-19, 2014.

BUSTOS-SEGURA, C. et al. Intraspecific diversity of terpenes of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) at a continental scale. **Australian Journal of Botany**, v. 65, p. 257-269, 2017.

CARNEIRO, N. S et al. Óleo essencial das flores de *Eugenia klotzchiana* (Myrtaceae): composição química e atividades tripanocida e citotóxica in vitro. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 1-12, 2017.

CARVALHO, D. D. C. et al. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, p. 36-42, 2011.

CASCAES, M. M. Constituents and Pharmacological Activities of *Myrcia* (Myrtaceae): A Review of an Aromatic and Medicinal Group of Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 23881-23904, 2015.

CASTRO, M. R. et al. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: Antioxidant and antifungal activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 2, p. 242-250, 2015.

CASTRO, H.G. et al. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**. v.27, n.1, p.55-57, 2004.

CAVALEIRO, C. Plantas aromáticas e óleos essenciais em farmácias e medicina. In: FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. (Eds). **Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais**. 3 ed. Curso Teórico-Prático, Edição Centro de Biotecnologia Vegetal – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2007.

CERQUEIRA, M. D. et al. Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1544-1548, 2009.

CHALANNAVAR, R. K. et al. Chemical composition of essential oil of *Psidium cattleianum* var. *lucidum* (Myrtaceae). **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 33, p. 8341-8347, 2012.

CHALANNAVAR, R. K. et al. Chemical constituents of the essential oil from leaves of *Psidium cattleianum var. cattleianum*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 13, p. 783-789, 2013.

CHAVES, F. C. M. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de folhas de dois morfotipos de sacaca (*Croton cajucara* Benth.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, n. 4, p. 117-119, 2006.

CHIZZOLA, R. Regular Monoterpenes and Sesquiterpenes (Essential Oils). **Natural Products**, 2973-3008, 2013.

CIFTCI, O.; OZTANIR, M. N.; CETIN, A. neuroprotective effects of β -Myrcene following global cerebral ischemia/reperfusion-mediated oxidative and neuronal damage in a C57BL/J6 mouse. **Neurochemical Research**, v. 39, n. 9, p. 1717-1723, 2014.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Evolução dos custos de produção de feijão no Brasil e sua rentabilidade**. Brasília, v. 1, p. 4-23, 2016.

CORREIA, S. J. et al. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das Folhas de *Tapirira guianensis*. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2056-2059, 2008.

COUTINHO, H. D. M. et al. Atividade antimicrobiana in vitro de geraniol e cariofileno sobre *Staphylococcus aureus*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 20, n. 1, p. 98-105, 2015.

CRUZ, T. P. et al. Atividade fungicida dos óleos essenciais de eucalipto no manejo de *Fusarium solani*. In: XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência – Universidade do Vale do Paraíba. **Anais...** Paraíba, p. 1-6, 2018. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2018/anais/arquivos/0081_0012_02.pdf>. Acesso em 09 jun. 2019.

DAHHAM, S. S. et al. The Anticancer, Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Sesquiterpene β -Caryophyllene from the Essential Oil of *Aquilaria crassna*. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 11808-11829, 2015.

DEBOUCK, D.G. Systematics and morphology. In: SCHOOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). **Common beans: research for crop improvement**. Cali: CIAT, p. 55-118, 1991.

DEMUNER, A.J. et al. Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of *Leptospermum* (*Myrtaceae*) grown in Brazil. **Molecules**, v.16, n.2, p.1181-1191, 2011.

DOMENE, M. P. et al. Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-6, 2016.

EBADOLLAHI, A. Essential oils isolated from Myrtaceae family as natural insecticides. **Annual Review & Research in Biology**, v. 3, n. 3, p. 148-175, 2013.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Reserch**, v. 21, p. 308-323, 2007.

EGEA, M. B. et al. Comparative analysis of aroma compounds and sensorial features of strawberry and lemon guavas (*Psidium cattleianum* Sabine). **Food Chemistry**, v. 164, p. 272–277, 2014.

FALEIRO, J. H. The Chemical Featuring, Toxicity, and Antimicrobial Activity of *Psidium cattleianum* (Myrtaceae) Leaves. **New Jounal of Science**, v. 2016, p. 1-8, 2016.

FALKENBERG, M.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: Simões, C. M. O. et al. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5^a ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, v. único, p. 229-246, 2003.

FARKAS, J., MOHÁCSI-FARKAS, C. Food technology: food irradiation. In: MOTAJERMI, Y. (ed). 1. ed. **Safety of foods and beverages: spices and seasonings**. Encyclopedia of Food Safety. Volume 3: Foods, Materials, Technologies and Risks. Elsevier, p. 324-330, 2014.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FERREIRA, D. F. et al. Oxygen introduction during extraction and the improvement of antioxidant activity of essential oils of basil, lemon and lemongrass. **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, p. 1-7, 2017.

FERREIRA, D. S. et al. Ocorrência de fungos em sementes de feijão 'Red Mexican' e seu efeito na germinação. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 4, p. 542-545, 2017.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213-26, 2008.

FIGUEIREDO, P. L. B. et al. Chemical variability in the essential oil of leaves of Araçá (*Psidium guineense* Sw.), with occurrence in the Amazon. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 2-11, 2018.

FLORA DO BRASIL. **Flora do Brasil, 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 29 set. 2017.

FLORES, G. et al. Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. **Food Chemistry**, v. 170, p. 327-335, 2015.

FONSECA, M. C. M. et al. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 1, p. 45-50, 2015.

FORZZA, R. C. et al. Introdução: as angiospermas do Brasil. In: Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Scielo Books**, v. 1, p. 78-89, 2010.

FOURNIER, L. A. Un metodo cuantitativo para la medición de características fenológicas en arboles. **Turrialba**, v. 24, n. 4, p. 422-423, 1974.

FOURNIER, L. A.; CHARPANTIER, C. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los arbores tropicales. **Turrialba**, v. 25, n. 1, p. 45-48, 1975.

FRANCO, L. L. **As incríveis 50 plantas com poderes medicinais**. 1. ed. Curitiba: Lobo Franco, 2001. 247p.

FRANZENER, G. et al. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 29-38, 2007.

FRANZON, R. C. **Caracterização de Mirtáceas nativas do sul do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, 2004. 114p.

FRANZON, R. C. et al. Araçás do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrências, descrição e usos. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. 48 p.

GALHEIGO, M. R. U. Antidiarrhoeic effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. **Natural Product Research**, v. 30, n. 10, p. 1182-1185, 2015.

GINDRI, D. M. **Qualidade fisiológica e sanitária das sementes de cultivares criolas de feijão produzidas no sistema orgânico e convencional**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade do Estado de Santa Catarina, 2014. 89 p.

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

GOODGER, J. Q. D. et al. Foliar Essential Oil Glands of *Eucalyptus* Subgenus *Eucalyptus* (Myrtaceae) Are a Rich Source of Flavonoids and Related NonVolatile Constituents. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. 1-18, 2016.

GOULART, A. C. P. Tratamento de sementes com fungicidas. In: **EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste**. Algodão. Informações técnicas. Dourados: EMBRAPA-CPAO: Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, p.71-84, 1998.

GOUVÊA, A. V. et al. Avaliação da contaminação de amostras de soja com resíduos de agrotóxicos pelo método QuEChERS acetato com análise por meio de CLAE-EM/EM. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 74, n. 3, p. 225-238, 2015.

GOVINDARAJAN, M. et al. Eugenol, α -pinene and β -caryophyllene from *Plectranthus barbatus* essential oil as eco-friendly larvicides against malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. **Parasitology Research**, v. 115, n. 2, p. 807-815, 2016.

GRANADOS-CHINCHILLA, F. et al. Composition, Chemical Fingerprinting and Antimicrobial Assessment of Costa Rican Cultivated Guavas (*Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Nied. and *Psidium guajava* L.) Essential Oils from Leaves and Fruits. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 4, n. 6, p. 1-10, 2016.

GUPTA, A.; SHARMA, S.; NAIK, S.N. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 5, p. 703-707, 2011.

HASTON, E. et al. The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 128-131, 2009.

HENNING, A. A. **Patologia e Tratamento de Sementes: Noções Gerais**. 2. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52 p.

HILLEN, T. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

HNAWIA, E. et al. An examination of the leaf essential oils of the endemic *Melaleuca* (Myrtaceae) species of New Caledonia. **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 3, p. 273-278, 2012.

HOMER, L. E. et al. Natural variation in the essential oil content of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 4, p. 367-382, 2000.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous Inference in General Parametric Models. **Biometrical Journal**, v. 50, n. 3, p. 346-363, 2008.

HRUSKA, A. F.; DIRR, M. A.; POKORNY, F. A. Investigation of anthocyanc pigments and substances inhibitory to seed germination in the fruit pulp of *Liriope muscari*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 107, p. 468-73, 1982.

HUIZA, J. F. P. et al. Cálculos espectroscópicos de infravermelho de p-cimeno. In: **57º Congresso Brasileiro de Química**. Rio Grande do Sul, 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 05 mar. 2019.

IM, I. et al. The Butanol Fraction of Guava (*Psidium cattleianum* Sabine) Leaf Extract Suppresses MMP-2 and MMP-9 Expression and Activity Through the Suppression of the ERK1/2 MAPK Signaling Pathway. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 2, p. 255-266, 2012.

ISSA, R. A.; TALIB, W. H.; HABASH, M. Phytochemical Investigation and Antimicrobial Activities of Jordanian *Psidium guajava* Raw Fruit Peel Extract using Soxhlet and Microwave Extraction Methods. **Research Jounal of Medicinal Plants**, v. 10, n. 8, p. 443-449, 2016.

ITO, M. F. et al. Importância do uso de sementes sadias de feijão e tratamento químico. **O Agronômico**, v. 55, n. 1, p. 14-16, 2003.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M.L.; MELLO, J.C.P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**.v.30, n.3, p.241-248, 2009.

KIFER, D.; MUŽINIĆ, V.; KLARIĆ, M. S. Antimicrobial potency of single and combined mupirocin and monoterpenes, thymol, menthol and 1,8-cineole against *Staphylococcus aureus* planktonic and biofilm growth. **The Journal of Antibiotics**, v. 69, n. 9, p. 689-696, 2016.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm, 1928.

LANÇAS, F. M.; CAVICHIOLI, M. Analysis of the essential oils brazilian citrus fruits by capillary gas chromatography. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 13, p. 207-209, 1990.

LAVABRE, M. **Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais**. 6 ed. Rio de Janeiro: Nova Era, 2005.

LEITE, N. F. et al. Atividade antiparasitária in vitro e citotóxica de cariofileno e eugenol contra *Trypanossoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 4, p. 522-528, 2013.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 17, p. 67-89, 2004.

LI, Y. et al. 1, 8-Cineol protect against Influenza-Virus-Induced pneumonia in mice. **Inflammation**, v. 39, n. 4, p. 1582-1593, 2016.

LIMA, P. S. S. et al. Inclusion of terpenes in cyclodextrins: Preparation, characterization and pharmacological approaches. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 965-987, 2016.

LISBÔA, G. N.; KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. *Psidium cattleianum* – Araçá. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Orgs). **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial Plantas para o Futuro - Região Sul**. ed. Brasília: IBAMA/MMA, p. 205-208, 2011.

LOPES, L. B. et al. Análise in silico do potencial antiviral e antifúngico de sesquiterpeno A-Bisabolol. **Archives of Health Investigation**, v. 7, p. 16, 2018.

LOVATO, F. et al. Proximate composition and mineral content of different cultivars of biofortified beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal Food Technology**, v. 21, p. 1-6, 2018.

LOZANO, C. et al. Evaluacion del efecto de hidrolatos de ajo (*Allium sativum*) y cebolla junca (*Allium fistulosum*) en el desarollo de los hongos fitopatogenos *Botrytis alli* y *Sclerotium cepivorum*. **Fitopatología Colombiana**, v. 24, n. 1, p. 29-32, 2000.

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 496–502, 2003.

MACHADO, J. C.; LANGERAK, C. J.; JACCOUD-FILHO, D. S. 1 ed. **Seed-borne fungi: a contribution to routine seed health analysis**. Zurich: International Seed Testing Association. 2002. 138 p.

MACHADO, R. M. **Distribuição geográfica e análise cariotípica de citótipos de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2016. 91 p.

MARCHESE, A. et al. Update on Monoterpenes as Antimicrobial Agents: A Particular Focus on p-Cymene. **Materials**, v. 10, n. 8, p. 1-15, 2017.

MARINO, R. H. et al. Incidência de fungos em sementes de (*Phaseolus vulgaris* L.) provenientes do Estado de Sergipe. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 3, n. 1, p. 26-30, 2008.

MARQUES, F. A. et al. Volatile oil of *Psidium cattleianum* Sabine from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, p. 519–520, 2008.

MARTINS, F.T.; SANTOS, M.H.; POLO, M.; BARBOSA, L.C.A. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., sob condições de cultivo. **Química Nova**, v.29, n.6, p.1203-1209, 2006.

MATTOS, J. R. **Frutos indígenas comestíveis do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1978. 31 p.

MEDEIROS, F. C. M. et al. Scents from Brazilian Cerrado: *Psidium myrsinoides* DC. (Myrtaceae) leaves and inflorescences essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 27, n. 4, p. 289-292, 2015.

MEDEIROS, F. C. M. et al. Scents from Brazilian Cerrado: chemical composition of the essential oil from *Psidium larotteeum* Cambess (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 30, n. 4, p. 253-257, 2018.

MEDEIROS, J. G. F. et al. Sanidade e germinação de sementes de *Clitoria fairchildiana* Howard tratadas com extratos de plantas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 403-408, 2013.

MEDINA, A. L. et al. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MOGHIMI, R.; ALIAHMADI, A.; RAFATI, H. Ultrasonic nanoemulsification of food grade trans-cinnamaldehyde: 1,8-Cineol and investigation of the mechanism of antibacterial activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 35, p. 415-421, 2017.

MOITA NETO, J. M. M. Estatística Multivariada: uma visão didática-metodológica. Crítica. **Revista de Filosofia e Ensino**, v. 1, n. 1, p. 1-13, 2004.

MONDAL, P.; KAUR, S. Study of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Activity and Antimicrobial Properties of Medicinal Plants. **Journal of Microbiology & Experimentation**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2014.

MONTEIRO, M. H. et al. óleos essenciais terapêuticos obtidos de espécies de *Melaleuca* L. (Myrtaceae Juss.). **Revista Fitoterá**, v. 8, n. 1, p. 19-32, 2013.

MOON, J. Y. et al. Free radical-scavenging activities and cytoprotective effect of polyphenol-rich ethyl acetate fraction of guava (*Psidium cattleianum*) leaves on H2O2-treated HepG2 Cell. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 56, n. 6, p. 687-694, 2013.

MORAIS, L. A. S. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais em sementes de feijão cv. carioquinha. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 6261-6266, 2008.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009b.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BITTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009a. 341 p.

MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. Phenolic composition and medicinal usage of *Psidium guajava* Linn.: Antifungal activity or inhibition of virulence? **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 2, p. 302-313, 2017.

MOSS, M. et al. Expectancy and the aroma of Roman chamomile influence mood and cognition in healthy volunteers. **International Journal of Aromatherapy**. v. 16, n. 2, p. 63-73, 2006.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides: an update of human exposure and toxicity. **Archives of Toxicology**, v. 91, p. 549-599, 2017.

MOURA, G. S. et al. Atividade antimicrobiana e indutora de fitoalexinas do hidrolato de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 2, p. 309-315, 2014.

MUSTHAFA, K. S. et al. Evaluation of phytochemicals from medicinal plants of Myrtaceae family on virulence factor production by *Pseudomonas aeruginosa*. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinamica**, v. 125, n. 5, p. 482-490, 2017.

MUTHUMPERUMAL, C. et al. Chemical profiling of leaf essential oil, Antioxidant potential and Antibacterial activity of *Syzygium lanceolatum* (Lam.) Wt. & Arn. (Myrtaceae). **Free Radicals and Antioxidants**, v. 6, n. 1, p. 13-22, 2016.

NASCIMENTO, D. M.; VIEIRA, G. H. C.; KRONKA, A. Z. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 3, n. 4, p. 65-68, 2016.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. "Repellent activity of essential oils: a review". **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 372–378, 2010.

NUZHAT, T.; VIDYASAGAR, G. M. Antifungal investigations on plant essential oils. A review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 19-28, 2013.

OLIVEIRA, D. M. et al. Considerações acerca da produção e qualidade de grãos de feijão. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 3, n. especial, p. 16-22, 2014.

OLIVEIRA, J. S. B. et al. Activation of biochemical defense mechanisms in bean plants for homeopathic preparations. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 11, p. 971-981, 2014.

OLIVEIRA, J. S. B. et al. Homeopatias de óleos essenciais sobre a germinação de esporos e indução de fitoalexinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 208-215, 2017.

OLIVEIRA, M. S. et al. Potentially phytotoxic of chemical compounds present in essential oil for invasive plants control: a mini-review. In: RADHAKRISHNAN, R. **Biological Approaches for Controlling Weeds**. Stoughton: BoD – Books on Demand, 2018. 98 p.

OLIVEIRA, T. M. Evaluation of p-cymene, a natural antioxidant. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 3, p. 423-428, 2015.

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

PADOVAN, A. et al. The evolution of foliar terpene diversity in Myrtaceae. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, n. 3, p. 695-716, 2014.

PAROUL, N. et al. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Psidium cattleianum* (Araçá-do-campo). In: **30 Reunião anual da SBQ**. Águas de Lindóia, CD de resumos, 2007.

PAROUL, N. **Síntese enzimática de ésteres aromatizantes a partir de diferentes substratos em sistema livre de solvente orgânico**. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade de Caxias do Sul, 2011. 131 p.

PARSA, S. et al. Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Fungal Biology**, v. 120, n. 5, p. 783-790, 2016.

PAULINO, A. H. S. et al. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) ameliorates liver damage and reduces hepatic steatosis in rats fed with a high-fat diet. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 7, n. 2, p. 132-140, 2019.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016.

PEREIRA, E. S. et al. Compostos bioativos e potencial antioxidante de genótipos de araçá avaliados em dois ciclos produtivos. **Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa - CONGREGA**, Urcamp, p. 1-11, 2017.

PEREIRA, E. S. et al. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, v. 258, p. 95-103, 2018.

PIO CORREA, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **Imprensa Nacional**, p. 140-144, 1926.

POMBO, J. C. P. et al. Efeito antimicrobiano e sinergístico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

RAAL, A. et al. Variation in the composition of the essential oil of *Valeriana officinalis* L. roots from Estonia. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences**, v. 56, n. 2, p. 67-74, 2007.

RAMOS, K.; ANDREANI JUNIOR, R.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 2, p. 605-612, 2016.

RANI, P. R. et al. Storage studies on pinto beans under different moisture contents and temperature regimes. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 78-85, 2013.

RASEIRA, M. M. C. B.; RASEIRA, A. **Contribuição ao estudo do araçazeiro.** *Psidium cattleianum*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1996. 95 p.

RASEIRA, M. C. B. et al. **Aspectos Técnicos da cultura da framboeseira,** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.22. (Documento, 120).

ROCHA, L. D. et al. Estudo anatômico da casca do caule araçá-amarelo e araçá-vermelho, *Psidium cattleianum* Sabine, Myrtaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 22, p. 1114-1122, 2008.

RODRIGUES, L. A. F. et al. *Syzygium cumini* (L.) Skeels essential oil and its major constituent α -pinene exhibit anti-*Leishmania* activity through immunomodulation in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 32-40, 2015.

RODRIGUES, M. S. et al. Atividade fungitóxica de hidrolatos de plantas medicinais. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, p. 1-4, 2011.

ROLEIRA, F. M. F. et al. Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. **Food Chemistry**, v. 183, p. 235-258, 2015.

ROSADO, L. D. S. et al. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjericão "Maria Bonita" na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.

RUFINO, A. T. et al. Anti-inflammatory and chondroprotective activity of (+) α -Pinene: structural and enantiomeric selectivity. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 2, p. 264-269, 2014.

RUFINO, A. T. et al. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. **European Journal of Pharmacology**, v. 750, p. 141-150, 2015.

SANCEVERO, S. S. Aplicação de técnicas de estatística multivariada na definição da litologia a partir de perfis geofísicos de poços. **Revista Brasileira de Geociências**. v. 38, p. 61-74, 2008.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis a fauna na arborização urbana.** 2. ed. Porto Alegre, 1989. 304 p.

SANGALLI, J. et al. Antimicrobial activity of *Psidium cattleianum* associated with calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: an in vitro study. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, n. 6, p. 2273-2279, 2018.

SANTANA, M. F. et al. p-Cymene reduces orofacial nociceptive response in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 6, p. 1138-1143, 2011.

SANTOS, E. L. et al. Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 20-26, 2007.

SANTOS, P. L. **Efeito de óleos essenciais sobre o fungo *Phomopsis sojae* e a qualidade fisiológica de sementes de soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu, 2014. 51 p.

SANTOS, R. I. Metabolismo Básico e Origem dos Metabólitos Secundários. In: SIMÕES, M.O. et al. (orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.

SARMENTO-BRUM, R. B. C. Effect of plant oils in inhibiting the mycelial growth of pathogenic fungi. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 5, n. 1, p. 63-70, 2014.

SARTO, M. P. M.; ZANUSSO JUNIOR, G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista UNINGÁ**, v. 20, n. 1, p. 98-102, 2014.

SCALVENZI, L. et al. *Myrcia splendens* (Sw.) DC. (syn. *M. fallax* (Rich.) DC.) (Myrtaceae) Essential Oil from Amazonian Ecuador: A Chemical Characterization and Bioactivity Profile. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1-12, 2017.

SCUR, M. C. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, p. 101-108, 2016.

SELVARAJ, M. et al. Comparison of mesoporous A1-MCM-41 molecular sieves in the production of p-cymene for isopropylation of toluene. **Journal of Molecular Catalysis: A Chemistry**, v. 186, p. 173-186, 2002.

SHRINIWAS, P. P.; SUBHASH, T. K. Antioxidant, antibacterial and cytotoxic potential of silver nanoparticles synthesized using terpenes rich extract of *Lantana camara* L. leaves. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 10, p. 76-81, 2017.

SIANI, A. C. et al. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 57-69, 1999.

SILVA, A. F.; RABELO, M. F. R.; ENOQUE, M. M. Diversidade de angiospermas e espécies medicinais de uma área de Cerrado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1016-1030, 2015.

SILVA, E. A. J. et al. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 697-702, 2019.

SILVA, G. C. et al. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) provenientes do estado de Goiás. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 29-39, 2008.

SILVA, J. P. L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 136-141, 2010.

SILVA, J. S.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, S. P. S. S. Óleo essencial de *Mentha arvensis* L. como agente no controle de fungos fitopatógenos. **Pesquisa Agropecuária**, v. 17, p. 99-100, 2012.

SILVA, K. M. et al. Potencial fisiológico das sementes de feijão caupi tratadas com óleo essencial de cravo da índia (*Syzygium aromaticum*). **Horticultura brasileira**, v. 30, n. 2, p. 8170-8177, 2012.

SILVA, M. B. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 10, n. 3, p. 57-60, 2008.

SILVA, C.J. et al. Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of *Myrtaceae* species planted in Brazil. **Química Nova**, v.33, n.1, p.104-108, 2010.

SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, p. 247-262, 2004.

SKOOG, D. et al. **Fundamentos de química analítica**. 9. ed. Boston: Cengage Learning, 2014. 1088 p.

SOBRAL, M. **A Família das Myrtaceae no Rio Grande do Sul**. São Leopoldo, RS: Editora Unisinos, 2003, 215p. (Coleção Fisionomia Gaúcha).

SOBRAL. M. et al. *Myrtaceae*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 12 out. 2017.

SOBRAL-SOUZA, C. E. et al. Avaliação da atividade citotóxica e potencial antiparasitário in vitro do α -pineno e carvacrol. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 22, n. 2, p. 76-80, 2014.

SOBUCKI, L. et al. Caracterização físico-química de diferente espécie de mirtáceas na cidade de Cerro Largo RS. **Cadernos de Agroecologia**, v. 10, n. 3, p. 1-5, 2015.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136-141, 2012.

SOUZA, R. M. S.; SERRA, I. M. R. S.; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012.

SOUZA, A. et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of essential oils of *Myrceugenia myrcioides* (Cambess.) O. Berg and *Eugenia riedeliana* O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 175-179, 2010.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitroand in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3, p. 183-189, 2010.

STEFANELLO, M. E. A. et al. Composição química e variação sazonal dos óleos essenciais de *Eugenia pyriformis* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 3, p. 449-453, 2009.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chemistry and Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73 - 94, 2011.

TAIZ, L. et al. **Plant physiology and development**. 6 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2014. 700 p.

TEIXEIRA, M. Z.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito de ultradiluições homeopáticas em plantas: revisão da literatura. **Revista de Homeopatia**, v. 80, n. 1-2, p. 113-132, 2017.

TIAN, J. et al. The Mechanism of Antifungal Action of Essential Oil from Dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2012.

TUCKER, A. O.; MACIARELLO, M. J.; LANDRUM, L. R. Volatile Leaf Oils of American Myrtaceae. III. *Psidium cattleianum* Sabine, *P. friedrichsthalianum* (Berg) Niedenzu, *P. guajava* L., *P. guineense* Sw., and *P. sartorianum* (Berg) Niedenzu. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, n. 2, p. 187–190, 1995.

VALENTINI, C. M. A. et al. Annual variation of yield and chemical composition of volatile components of *Siparuna guianensis* Aublet. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1506-1509, 2010.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. **Journal Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VENTUROSO, L. R. Inibição do crescimento in vitro de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 1, p. 89-95, 2011.

VERAS, B. O. et al. Algrizea Minor Sobral, Faria & Proença (Myrteae, Myrtaceae): chemical composition, antinociceptive, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil. **Natural Product Research**, p. 1-5, 2019.

VIEGAS, E. C. et al. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 915-919, 2005.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

WANG, K. et al. Antifungal activity of phenolic monoterpenes and structure-related compounds against plant pathogenic fungi. **Natural Product Research**, v. 33, n. 10, p. 1-8, 2018.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 5 ed. Itajaí: Univali, 2016. 304 p.

ZAMORA, A. P. et al. The in vitro and in vivo antiviral properties of combined monoterpene alcohols against *West Nile* virus infection. **Virology**, v. 495, p. 18-32, 2016.

ZATELLI, G. A. et al. Antimycoplasmic activity and seasonal variation of essential oil of *Eugenia hiemalis* Cambess. (Myrtaceae). **Natural Product Research**, v. 30, n. 17, p. 1961-1964, 2015.

ZELLNER, B. d'A. et al. Analysis of Essencial Oils. In: **Handbook of Essencial Oils: Science, Technology, and Applications**. BASER, K. H. C. BUCHBAUER, G. 1. ed. New York: CRC Press, 2010. 994 p.

ZHANG, X. et al. Formation and evolution of molecular products in α -pinene secondary organic aerosol. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 46, p. 14168-14173, 2015.

ZHAO, C. et al. 1,8-Cineol attenuates LPS-Induced acute pulmonary inflammation in mice. **Inflammation**, v. 37, n. 2, p. 566-572, 2014.

ZHOU, L. et al. Evaluation of the antifungal activity of individual and combined monoterpenes against *Rhizopus stolonifer* and *Absidia coerulea*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 8, p. 7804-7809, 2019.

ANEXO A – Perfil químico do óleo essencial de *Psidium cattleianum* no morfotipo vermelho em diferentes fases fenológicas e local de coleta.

| Pico | Substância | Grupo | RT (min) | Ki exp. | L1F1 | L1F2 | L1F3 | L1F4 | L2F1 | L2F2 | L2F3 | L2F4 | L3F1 | L3F2 | L3F3 | L3F4 | L4F1 | L4F2 | L4F3 | L4F4 |
|------|---------------------------------|-------|-------------|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 | 1- α pineno | MNO | 5,064 | 949,2 | 6,9 | 18,4 | 10,2 | 10,8 | 3,2 | 14,5 | 11,5 | 8,20 | 7,30 | 12,5 | 3,7 | 10,6 | 6,8 | 15 | 0 | 10,4 |
| 2 | β- Pineno | MNO | 6,04 | 1003 | 0,3 | 0,7 | 1,8 | 0,4 | 0,3 | 0,7 | 0,6 | 0,5 | 0,40 | 0,6 | 0,6 | 0,4 | 0,4 | 0,7 | 0 | 0,6 |
| 3 | Mirceno | MNO | 6,33 | 1014 | 2,6 | 0,5 | 1,3 | 1,6 | 0,8 | 0,8 | 1,8 | 1,9 | 1,30 | 0,6 | 3,9 | 1 | 1,4 | 1 | 0 | 1,1 |
| 5 | α felandreno | MNO | 6,72 | 1028 | 0,2 | 0,4 | 0,3 | 0,5 | 0,2 | 0,6 | 0,2 | 0,1 | 0,20 | 0,3 | 1,7 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0 | 0,5 |
| 6 | Iso silvestreno | MNO | 6,85 | 1032 | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 0,2 | 0,05 | 0,2 | 1,5 | 1 | 0,60 | 0,1 | 0,05 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0 | 0,3 |
| 7 | α terpineno | MNO | 7,03 | 1039 | 0,4 | 1 | 0,3 | 1 | 0 | 1,6 | 5,4 | 2,2 | 0,30 | 0,7 | 0,8 | 0,4 | 0,5 | 0,9 | 0 | 0,9 |
| 8 | P- cimeno | CA | 7,24 | 1046 | 0,5 | 1,3 | 1 | 2,2 | 0,8 | 0 | 19 | 33,4 | 0,50 | 1,6 | 0,3 | 2,2 | 1 | 0,7 | 0 | 3,7 |
| 9 | Limoneno 1,8- Cineol | MNO | 7,357 | 1050 | 3,74 | 3,6 | 3,4 | 5,3 | 2,2 | 3,3 | 2,6 | 2,3 | 2,80 | 2,4 | 5,5 | 3,3 | 3,4 | 3 | 0 | 4 |
| 10 | (eucaliptol) | MO | 7,453 | 1053 | 40,4 | 4,5 | 24 | 11,5 | 55,8 | 6,8 | 0,4 | 0,5 | 45,20 | 33,8 | 11,5 | 16,3 | 47,9 | 20,6 | 0 | 12,8 |
| 11 | (Z) β- ocimeno | MNO | 7,575 | 1056 | 0,8 | 5,1 | 0,8 | 2,6 | 0,05 | 4,3 | 6,3 | 4,4 | 0,60 | 2,5 | 1 | 2,8 | 0,7 | 3,7 | 0 | 5 |
| 12 | (E) β- ocimeno | MNO | 7,85 | 1065 | 0,9 | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,4 | 0,4 | 0,6 | 0,50 | 0,4 | 0,2 | 0,4 | 0,4 | 0,6 | 0 | 0,7 |
| 13 | σ - Terpineno Butirato 1,4 - | MNO | 8,204 | 1076 | 3,4 | 4,8 | 5,1 | 5,6 | 2,4 | 6,2 | 0,5 | 0,4 | 4,10 | 4 | 1,9 | 2,5 | 4,9 | 4,9 | 0 | 7,1 |
| 14 | pentenila | Éster | 8,37 | 1080 | 0,11 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,9 | 0,6 | 4 | 4,8 | 0,70 | 0,5 | 0,5 | 0,4 | 0,5 | 0,4 | 0 | 0,4 |
| 15 | Terpinoleno | MNO | 9,072 | 1100 | 0,2 | 0,4 | 0,5 | 0,5 | 0,2 | 0,6 | 0,9 | 0,9 | 0,40 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0 | 0,6 |
| 16 | Linalol | MO | 9,395 | 1111 | 4,2 | 5,8 | 4,8 | 2 | 6,6 | 6 | 3 | 4 | 5,60 | 6,5 | 2 | 4,4 | 4,7 | 4,3 | 0 | 4,8 |
| 17 | 4- Terpineol | MO | 11,851 | 1185 | 1,3 | 0,4 | 0,9 | 0,8 | 1,8 | 0,6 | 0,8 | 0,7 | 1,40 | 1,1 | 2,6 | 0,7 | 1,7 | 0,9 | 0 | 1,3 |
| 18 | α- Terpineol | MO | 12,281 | 1197 | 4,1 | 0,9 | 3,2 | 3 | 6 | 1,2 | 0,5 | 0,4 | 5,20 | 3,5 | 1,4 | 3 | 6 | 3,2 | 0 | 3,4 |
| 19 | E- Cariofileno | SNO | 19,626 | 1424 | 0,16 | 5,8 | 9,2 | 10,8 | 1,5 | 10,9 | 1,2 | 1,2 | 2,60 | 2,6 | 7,6 | 8,6 | 1,9 | 4,8 | 0 | 9,7 |
| 20 | α- Humuleno gamaσ- | SNO | 20,65 | 1458 | 0,17 | 0,7 | 0,8 | 1 | 0,2 | 1 | 0,5 | 0,6 | 0,20 | 0,2 | 0,6 | 0,8 | 0,2 | 0,6 | 0 | 0,9 |
| 21 | Muuruleno | SNO | 21,346 | 1479 | 0,18 | 0,7 | 0,6 | 0,6 | 0,1 | 1 | 1,8 | 1,5 | 0,20 | 0,3 | 0,6 | 0,6 | 0,4 | 0,6 | 0 | 1 |
| 22 | β -selineno | SNO | 21,65 | 1489 | 0,19 | 2,3 | 1,3 | 1,4 | 0,1 | 2,3 | 1,4 | 0,8 | 0,40 | 0,8 | 0,7 | 1,6 | 0,2 | 1,4 | 0 | 2,3 |
| 23 | α- Selineno | SNO | 21,921 | 1497 | 0,21 | 2,4 | 1,5 | 1,7 | 0,4 | 2,4 | 0,9 | 1,3 | 0,70 | 0,9 | 1,2 | 1,7 | 0,4 | 1,5 | 0 | 2,4 |
| 24 | Δ- Cadineno | SNO | 22,744 | 1526 | 0,23 | 0,8 | 0,6 | 0,7 | 0,1 | 0,9 | 1,4 | 1,3 | 0,30 | 0,3 | 0,5 | 1 | 0,1 | 0,5 | 0 | 0,7 |
| 25 | α- cadineno | SNO | 23,095 | 1538 | 0,24 | 3,4 | 2 | 2,2 | 0,2 | 3,2 | 1,5 | 1,02 | 0,40 | 1,1 | 1,6 | 2,5 | 0,2 | 1,4 | 0 | 2 |

(continuação)

| 3,7 (11) - | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|---------------------|-----|--------|------|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|---|-----|
| 26 | Selinadieno | SNO | 23,286 | 1545 | 0,25 | 3,3 | 2 | 2,2 | 0,2 | 3,2 | 2,7 | 2,2 | 0,40 | 0,8 | 1,6 | 2,4 | 0,2 | 1,4 | 0 | 2,2 |
| 27 | Germacreno B | SNO | 23,742 | 1560 | 0,26 | 5,8 | 0 | 0,3 | 0,05 | 4,5 | 4,6 | 3,8 | 0 | 1,4 | 0,7 | 1,7 | 0 | 2,4 | 0 | 1,5 |
| 28 | (E) - Nerolidol | SO | 23,915 | 1566 | 0,27 | 9,8 | 5,7 | 7,6 | 1,4 | 6 | 0,7 | 0,5 | 2,40 | 3,9 | 3,7 | 4,7 | 0,8 | 3,6 | 0 | 2,7 |
| 29 | Globulol | SO | 24,51 | 1586 | 0,28 | 0,7 | 2 | 2,4 | 3,5 | 0,5 | 0,1 | 0,1 | 2,10 | 2,4 | 2,1 | 1,7 | 2,6 | 2,4 | 0 | 1,4 |
| 30 | 1- Epi- Cubenol | SO | 25,769 | 1626 | 0,3 | 1,3 | 1,7 | 2,5 | 1,6 | 1,2 | 0,7 | 1,4 | 2,00 | 1,6 | 1,7 | 2,8 | 1,5 | 1,9 | 0 | 1,6 |
| 31 | α - Muurolol | SO | 26,279 | 1642 | 0,32 | 2,1 | 3 | 3,6 | 1,5 | 1,9 | 2,4 | 3,6 | 2,80 | 2,1 | 2,4 | 4,6 | 2,2 | 2,4 | 0 | 2,9 |
| 32 | α - Eudesmol | SO | 26,518 | 1650 | 0,33 | 6,6 | 7,3 | 7,7 | 3,2 | 4,4 | 4,6 | 7,7 | 4,50 | 5,6 | 4,6 | 8,8 | 4,8 | 8,1 | 0 | 6 |
| 33 | Valerianol | SO | 26,811 | 1658 | 0,34 | 1,1 | 0,7 | 0,9 | 0,5 | 4,4 | 0,6 | 0,9 | 0,50 | 0,7 | 0,6 | 1,2 | 0 | 0,7 | 0 | 0,7 |

* MNO – monoterpeno não oxigenado; MO – monoterpeno oxigenado; CA – Composto aromático; SNO – sesquiterpeno não oxigenado; SO – sesquiterpenos oxigenado.
L1F1 – Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e queda foliar; L1F2 – Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais; L1F3 – Estação Experimental da Epagri, floração; L1F4 – Estação Experimental da Epagri, frutificação; L2F1 – Morro Grande, folhas velhas e queda foliar; L2F2 – Morro Grande, folhas novas e botões florais; L2F3 – Morro Grande, floração; L2F4 – Morro Grande, frutificação; L3F1 – Bom Retiro, folhas velhas e queda foliar; L3F2 – Bom Retiro, folhas novas e botões florais; L3F3 – Bom Retiro, floração; L3F4 – Bom Retiro, frutificação; L4F1 – Pedras Brancas, folhas velhas e queda foliar; L4F2 – Pedras Brancas, folhas novas e botões florais; L4F4 – Pedras Brancas, frutificação.

ANEXO B – Perfil químico do óleo essencial de *Psidium cattleianum* no morfotipo amarelo em diferentes fases fenológicas e local de coleta.

| Pico | Substância | Grupo | RT (min) | Ki exp. | L1F1 | L1F2 | L1F3 | L1F4 | L2F1 | L2F2 | L2F3 | L2F4 | L3F1 | L3F2 | L3F3 | L3F4 | L4F1 | L4F2 | L4F3 | L4F4 |
|------|---|-------|-------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1- α pineno | MNO | 5,064 | 949,2 | 15,18 | 29,08 | 18,42 | 9,39 | 2,80 | 0 | 0 | 7,17 | 12,58 | 20,05 | 17,92 | 11,06 | 14,96 | 27,48 | 31,83 | 10,43 |
| 2 | β- Pineno | MNO | 6,04 | 1003 | 0,68 | 1,10 | 0,65 | 0,41 | 0,23 | 0 | 0 | 0,34 | 0,32 | 1 | 0,5 | 0,41 | 1,54 | 2,64 | 2,53 | 0,4 |
| 3 | Mirceno | MNO | 6,33 | 1014 | 13,74 | 9,83 | 10,21 | 10,73 | 8,90 | 0 | 0 | 21,57 | 4,23 | 2,67 | 6,08 | 4,84 | 4,67 | 5,13 | 7,51 | 11,57 |
| 4 | P- cimeno | CA | 7,24 | 1046 | 0,37 | 0,24 | 0,08 | 0,09 | 2,23 | 0 | 0 | 0,15 | 2,34 | 0,17 | 0,05 | 0,05 | 0,82 | 0,15 | 0,22 | 0,24 |
| 5 | Limoneno 1,8- Cineol | MNO | 7,357 | 1050 | 1,53 | 1,32 | 1,1 | 1,74 | 3,75 | 0 | 0 | 2,88 | 28,32 | 1,52 | 1,25 | 2,11 | 1,69 | 1,21 | 0,94 | 3,51 |
| 6 | (Z) β- ocimeno (E)- eucaliptol | MO | 7,453 | 1053 | 28,13 | 15,85 | 4,98 | 5,33 | 45,48 | 0 | 0 | 25,79 | 18,43 | 4,82 | 16,26 | 15,12 | 38,78 | 7,86 | 9,95 | 8,66 |
| 7 | σ - Terpineno | MNO | 7,575 | 1056 | 0,25 | 1,82 | 0,98 | 0,47 | 0,69 | 0 | 0 | 0,87 | 0,57 | 6,81 | 4,69 | 3,02 | 0,524 | 0,45 | 0,36 | 1,1 |
| 8 | Linalol | MO | 8,204 | 1076 | 0,60 | 0,63 | 0,57 | 0,75 | 1,84 | 0 | 0 | 0,88 | 0,96 | 0,33 | 0,54 | 0,57 | 1,81 | 0,44 | 0,43 | 0,71 |
| 9 | 4- Terpineol | MO | 9,395 | 1111 | 0,38 | 0,12 | 0,05 | 0,05 | 4,77 | 0 | 0 | 3,87 | 1,05 | 1,08 | 1,21 | 0,69 | 4,69 | 3,05 | 3,25 | 2,29 |
| 10 | α- Terpineol | MO | 11,851 | 1185 | 0,45 | 0,30 | 0,2 | 0,27 | 0,96 | 0 | 0 | 0,61 | 0,68 | 0,15 | 0,31 | 0,33 | 1,23 | 0,44 | 0,43 | 0,31 |
| 11 | E- Cariofileno | SNO | 12,281 | 1197 | 1,74 | 0,81 | 0,97 | 1,12 | 3,15 | 0 | 0 | 2,32 | 3,76 | 0,76 | 1,93 | 1,82 | 4,18 | 1,53 | 1,82 | 1,06 |
| 12 | α- Humuleno | SNO | 19,626 | 1424 | 5,93 | 5,97 | 14,47 | 18,09 | 2,67 | 0 | 0 | 10,87 | 0,38 | 1,04 | 2,03 | 1,02 | 2,94 | 8,96 | 11,85 | 20,72 |
| 13 | β -selineno | SNO | 20,65 | 1458 | 0,48 | 0,60 | 1,28 | 1,53 | 0,21 | 0 | 0 | 0,84 | 0,19 | 1,87 | 1,51 | 1,11 | 0,38 | 2,72 | 2,15 | 1,93 |
| 14 | α- Selineno | SNO | 21,65 | 1489 | 2,24 | 4,78 | 6,91 | 6,92 | 0,49 | 0 | 0 | 1,09 | 0,90 | 7,5 | 5,48 | 3,16 | 0,37 | 3,66 | 1,99 | 3,3 |
| 15 | Δ- Cadineno (E)- | SNO | 21,921 | 1497 | 1,89 | 4,43 | 6,46 | 6,42 | 0,59 | 0 | 0 | 1,41 | 0,93 | 7,8 | 5,92 | 4,17 | 0,59 | 3,35 | 2,58 | 3,01 |
| 16 | Nerolidol | SO | 23,915 | 1566 | 1,42 | 1,03 | 1,13 | 1,18 | 1,95 | 0 | 0 | 1,02 | 2,07 | 6,2 | 3,82 | 5,5 | 0,99 | 1,89 | 1,05 | 1,73 |

(continuação)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|--------------------|----|--------|------|------|------|------|------|------|---|---|------|------|------|------|-------|------|------|------|------|
| 18 | Globulol 1-Epi- | SO | 24,51 | 1586 | 5,60 | 2,45 | 3,06 | 3,87 | 4,03 | 0 | 0 | 0,98 | 3,62 | 2,17 | 1,51 | 3,3 | 4,99 | 3,63 | 3,04 | 3,75 |
| 19 | Cubenol | SO | 25,769 | 1626 | 2,15 | 1,47 | 2,1 | 2,61 | 2,12 | 0 | 0 | 1,16 | 2,52 | 2,08 | 1,74 | 4,43 | 2,3 | 2,46 | 1,78 | 3,11 |
| 20 | α -Muurolol | SO | 26,279 | 1642 | 0,76 | 0,51 | 0,87 | 1,04 | 1,12 | 0 | 0 | 1,02 | 0,39 | 0,72 | 0,49 | 0,72 | 1,11 | 0,81 | 0,78 | 1,62 |
| 21 | Valerianol | SO | 26,811 | 1658 | 4,90 | 5,59 | 7,24 | 7,9 | 2,65 | 0 | 0 | 3,75 | 4,62 | 7,55 | 4,19 | 10,14 | 3,68 | 7,17 | 6,11 | 6,55 |

* MNO – monoterpeno não oxigenado; MO – monoterpeno oxigenado; CA – Composto aromático; SNO – sesquiterpeno não oxigenado; SO – sesquiterpenos oxigenado. L1F1 – Estação Experimental da Epagri, folhas velhas e queda foliar; L1F2 – Estação Experimental da Epagri, folhas novas e botões florais; L1F3 – Estação Experimental da Epagri, floração; L1F4 – Estação Experimental da Epagri, frutificação; L2F1 – Morro Grande, folhas velhas e queda foliar; L2F2 – Morro Grande, folhas novas e botões florais; L2F3 – Morro Grande, floração; L2F4 – Morro Grande, frutificação; L3F1 – Bom Retiro, folhas velhas e queda foliar; L3F2 – Bom Retiro, folhas novas e botões florais; L3F3 – Bom Retiro, floração; L3F4 – Bom Retiro, frutificação; L4F1 – Pedras Brancas, folhas velhas e queda foliar; L4F2 – Pedras Brancas, folhas novas e botões florais; L4F4 – Pedras Brancas, frutificação.