

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAOLA SPANDRE

PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA
DE *Casearia sylvestris* Swartz

CURITIBA

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PAOLA SPANDRE

PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

DE Casearia sylvestris Swartz

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Agrárias

Orientador: Prof. Dr. Flávio Zanette

Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Biasi

CURITIBA

2010

S735 Spandre, Paola

Produção de óleo essencial e propagação vegetativa de *Casearia sylvestris* Swartz / Paola Spandre. – Curitiba, 2010
197 f. : il. : color

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, 2010
Orientador: Flávio Zanette
Co-orientador: Luiz Antonio Biasi

1. Plantas medicinais. 2. Plantas – Propagação por estaca
3. *Casearia sylvestris*. 4. Essências e óleos essenciais.
I. Zanette, Flávio. II. Biasi, Luiz Antonio. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal. IV. Título

CDU 633.8:631.53



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
PRODUÇÃO VEGETAL

PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pela candidata **PAOLA SPANDRE**, sob o título "**PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Casearia sylvestris Swartz***", para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Tese.

Curitiba, 28 de Outubro de 2010.

Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Coordenadora do Programa

Professor Dr. Idemir Citadin
Primeiro Examinador

Professor Dr. Ruy Inacio Neiva de Carvalho
Segundo Examinador

Professor Dr. Katia Christina Zuffellato Ribas
Terceira Examinadora

Professor Dr. Luiz Antonio Biasi
Quarto Examinador

Professor Dr. Flavio Zanette
Presidente da Banca e Orientador

Aos meus pais, Begoña e Roberto.

AGRADECIMENTOS

Muitas foram as pessoas ao longos destes anos, cuja ajuda e colaboração foi fundamental, não somente para a realização do presente trabalho, mas também para o meu crescimento como pessoa e pesquisadora. A lista è longa, mas, em especial:

Ao meu orientador Prof. Dr. Flávio Zanette vai um agradecimento especial, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela paciência, auxílio em todos os momentos difíceis, ensinamentos, conselhos e apoio incondicional. E ainda por ter sido como um segundo pai no Brasil, me acolhendo com carinho por tanto tempo com sua família. Obrigada.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Luiz Antonio Biasi pelo constante apoio, pelas dicas, pelas saída a “caça de guaçatongas”, a valiosa ajuda quando encontrava-me na Europa e especialmente pela disponibilidade e contagiante entusiasmo pelo seu trabalho.

A todos os professores da Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal, e principalmente à Profa. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas pelos conselhos e auxílios, pelos materiais cedidos e pelas boas conversas em italiano e ao Prof. Dr. Henrique Soares Koehler pelo apoio, sugestões, constantes auxílios estatísticos e, especialmente, pela sincera amizade.

Ao Prof. Dr. Cícero Deschamps pela disponibilização dos materiais e do Laboratório de Ecofisiologia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná e pelas valiosas sugestões e conselhos.

Ao Prof. Dr. Ruy Inacio Neiva de Carvalho e ao Prof. Idemir Citadin pelas valiosas correções.

À Dra. Lílian Cristina Côcco do LACAUTets - Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos da UFPR, pelas análises do óleo essencial.

À funcionária Maria Emília Kudla pela, paciência, pelos materiais concedidos e valioso auxílio nas avaliações além dos alegres momentos de companheirismo.

Ao funcionário Sr. Rainério Ferrarini pela dedicação, pelo constante cuidado com o material vegetal e auxílio na instalação e avaliação dos experimentos

À secretária da Pós-Graduação Lucimara Antunes pelo auxílio, apoio, e paciente correção dos documentos em português!

Ao funcionário Gilnei Machado Rosa pela ajuda no laboratório, as risadas e as conversas.

Ao Programa de Desenvolvimento Tecnológico Avançado da Fundação Parque Tecnológico Itaipu-Br (PDTA-PTI) pelo auxílio financeiro concedido, tornando possível a realização deste trabalho.

À Marcelle Bettoni pela sua amizade e apoio como representante discente e às amigas do Laboratório de Micropropagação e de Ecofisiologia, Yohana de Oliveira, Marília Pereira Machado, Mariane Schuck, Fernanda Pinto e Rafaellen Storck pela amizade e os momentos compartilhados.

Aos meus “estagiários internacionais” improvisados e impagáveis Emily Gipple, Christina Zahner, Manuel Delafoulhouze, Nicole Marques Witt, Carolina Coelho e César Gubert, pela fundamental ajuda no preparo e avaliação dos experimentos.

Ao André Luís Lopes da Silva e o Marcelo de Andrade Vieira pela amizade e apoio nos primeiros anos do doutorado.

Às minhas amigas e companheiras de apartamento Anne Kalb, Anika Schlockow, Carola Vogel, Priscila Araújo, Marie-Océane Parent e Esther Jimenez Herraiz que compartilharam a minha vida no Brasil nestes anos, por ter sido como uma família, pela amizade as risadas, por me entender, apoiar e dar força constante.

À Andrea Patiño e à Lury Yibel Forero pela amizade, risadas e conversas em espanhol, almoços abundantes e valiosa ajuda na realização deste trabalho.

Ao Luigi Martini, que foi como um irmão paciente e querido, pelos momentos passados juntos, pela ajuda valiosa, por ter compartilhado comigo as “tribulações do doutorando” e revelado os segredos da “vera pizza napoletana”!

Ao José Mauricio Duque, amigo, confidente, irmão querido e cúmplice, pelos momentos inesquecíveis, o prazer da sua companhia e pela força constante que me deu, obrigada!

À minha querida colega e amiga do coração Priscila Niesing (agora Binotto!) que desde o começo deste trabalho esteve sempre ao meu lado como a irmã que nunca tive, o seu apoio incondicional e a sua generosa ajuda contribuíram largamente à realização deste trabalho.

À Alessandra Viviani, pela força, carinho, apoio, generosidade e cumplicidade constante.

Ao Fabien Bénétou pelo incentivo, pelas críticas construtivas, por ter me ensinado muito, por ter acreditado em mim e neste trabalho constantemente, companheiro ao longo do caminho, e, especialmente, por estar me esperando com paciência.

Aos meus pais Begoña Hurtado Muñoz e Roberto Spandre, por ter sempre sido o meu modelo e por ter me apoiado, incentivado, entendido, consolado e sustentado durante todos estes anos longe deles. A eles vai todo meu carinho e agradecimento.

“Two roads diverged in a wood, and I
I took the one less traveled by,
And that has made all the difference.”

Robert Frost

RESUMO

Casearia sylvestris Swartz (Salicaceae) é uma árvore medicinal nativa da América do Sul, cujas folhas são utilizadas para o tratamento de problemas gástricos, picadas de cobra, na cura contra o câncer e outras doenças. O óleo essencial desta espécie é responsável pela atividade anti-séptica, antiúlcera, antiinflamatória citotóxica e antiofídica. *C. sylvestris*, como planta pioneira, é utilizada amplamente em programas de reflorestamento, especialmente de matas ciliares. Apesar da sua importância medicinal, existem poucos trabalhos publicados sobre a produção de mudas e técnicas de propagação vegetativa da espécie. Com o intuito de avaliar a produção de óleo essencial e viabilizar a produção de mudas de *C. sylvestris*, realizaram-se dois experimentos de extração e análise do óleo essencial a partir das folhas e quatro experimentos de estaquia utilizando diferentes tipos de propágulos. O objetivo do primeiro experimento foi avaliar a influência da época de colheita no teor e composição do óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris*. Houve variação sazonal na produção de óleo, sendo maio o mês que apresentou maior rendimento com 4,06 μLg^{-1} MS de óleo. Foram determinados 26 compostos, dos quais germacreno D, biciclogermacreno, trans-cariofileno, germacrene B e β -elemeno apresentaram teores superiores em relação aos demais constituintes. No segundo experimento objetivou-se avaliar a influência de três tipos de secagem no teor e composição do óleo essencial de folhas de *C. sylvestris*. A secagem em estufa a 60°C proporcionou maior quantidade de óleo essencial (10,22 μLg^{-1} MS). Foram determinados 32 compostos no óleo essencial dentre os quais o biciclogermacreno foi mais abundante em folhas secas a 40 e 60 °C e o δ -cadineno apresentou maior concentração em todos os tratamentos de secagem. O terceiro experimento realizado foi o de estaquia semilenhosa nas quatro estações do ano (outono, inverno e primavera de 2007 e verão de 2008), com a aplicação de ácido indol butírico (AIB), em solução hidroalcoólica. A melhor estação para o enraizamento foi a primavera/2007, com 39,1% de estacas enraizadas sem AIB. No quarto experimento foi avaliado o enraizamento de estacas obtidas de brotações de plantas adultas de *C. sylvestris*, após a poda e tratadas com AIB. A porcentagem média de enraizamento foi 66,01%, e o AIB não exerceu qualquer influência no enraizamento. Para o quinto experimento foram tratadas com e sem AIB estacas provenientes de podas drásticas em troncos e ramos de plantas adultas de *C. sylvestris*. Estacas de brotações de ramos apresentaram maior enraizamento sem aplicação de AIB (95,81%). Estacas obtidas de brotações surgidas de decape de 30 e 120 cm apresentaram estímulo ao enraizamento com aplicação de AIB até 1500 mg L⁻¹. O sexto experimento realizado foi o de miniestaquia nos meses dezembro/2009, janeiro/2010 e abril/2010, com uso de AIB em solução hidroalcoólica. A maior média de enraizamento foi obtida sem AIB para miniestacas coletadas em dezembro/2009 (97,27%). A propagação vegetativa de *C. sylvestris* por meio de miniestaquia é a técnica mais promissora para a produção de mudas da espécie. Folhas de *C. sylvestris* coletadas no outono e secas apresentam maiores teores de óleo essencial.

Palavras-chave: Óleo essencial. Estaquia. Miniestaquia. Guaçatonga.

ABSTRACT

ESSENTIAL OIL PRODUCTION AND VEGETATIVE PROPAGATION OF *Casearia sylvestris* SWARTZ

Casearia sylvestris (Salicaceae) is a medicinal tree from South America whose leaves are used as infusion for gastric problems treatments, as antivenin for snakebites, and in anticancer drugs among others. The essential oil of *C. sylvestris* leaves is responsible for its antiseptic, anti-ulcer, anti-inflammatory and cytotoxic properties. *C. sylvestris* as a pioneer species is widely used in reforestation programs, especially along water courses. Despite its medicinal relevance, there are few published works related to seedling production and vegetative propagation techniques for this species. The purpose of the present work was to determine the best harvesting season and drying temperature influence on yield and essential oil chemical composition of *C. sylvestris* leaves, and a viable seedling production technique through six assays, two discussing essential oil extraction and yield and the last four concerning the vegetative propagation of different kinds of explants. The first assay aimed to evaluate the harvesting season influence on essential oil yield and chemical composition of *C. sylvestris* leaves. Leaves harvested in May, yielded 4,06 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS. Analysis of the essential oils revealed the presence of 26 components represented mainly by germacrene D, bicyclgermacrene, trans-cariophyllene, germacrene B and β -elemene, which showed higher percentages in every harvesting month. During the second assay the drying temperature influence on yield and essential oil chemical composition of *C. sylvestris* leaves were tested. Essential oil yield varied according to the drying conditions, leaves dried at 60 °C yielded the most with 10,22 μLg^{-1} MS. Analysis of the essential oils revealed the presence of 32 components represented mainly by bicyclgermacrene in leaves dried at 40 and 60 °C and δ -cadinene in all drying treatments. The third assay tested the rooting response to indolebutyric acid (IBA) throughout the year's four seasons (autumn/winter 2007 and spring/summer 2008) of semihardwood cuttings collected from mature ortets. The rooting rate of the spring cuttings was 39,1%, zero hormones treatment and evaluated after 150 days. During the fourth assay semihardwood cuttings from previously pruned ortets branches were tested. Higher percentage of rooted cuttings (66,01%) was obtained with no use of IBA. In the fifth assay, cuttings collected from shoots grown on previously severely pruned trunks and branches of *C. sylvestris* and treated with different IBA doses, were tested. After 180 days a higher percentage of rooted cuttings was obtained without IBA from shoots grown on pruned branches (95,81%). *C. sylvestris* cuttings from stumped trunks (30 and 120cm) rooted after 1500 mg L⁻¹ IBA treatments. During the sixth assay minicuttings collected in December/2009, January and April/2010, treated with IBA alcoholic solution were examined. Higher mean percentage of rooting was obtained after 90 days in minicuttings collected in December/2009 (97,27%). The best vegetative propagation way to obtain viable *C. sylvestris* seedlings was the minicutting technique. Leaves collected in autumn and dried show higher percentages of essential oil.

Key Words: Essential oil. Cutting. Minicutting. Guaçatonga.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Aparelho Clevenger utilizado para a extração do óleo essencial de <i>C. sylvestris</i>	46
Figura 2	Teor de óleo essencial ($\mu\text{L g}^{-1}$ massa seca) de folhas de <i>C. sylvestris</i> em função de cinco épocas de coleta e temperaturas médias mensais ($^{\circ}\text{C}$) relativas aos 5 meses de coleta.....	48
Figura 3	Cromatograma da fração volátil do óleo essencial de folhas frescas de <i>C. sylvestris</i>	51
Figura 4	Rota biossintética de sesquiterpenos monocíclicos e possíveis rearranjos na cadeia carbônica (de Tininis <i>et al.</i> , 2006).....	54
Figura 5	Teor de óleo essencial ($\mu\text{L g}^{-1}$ massa seca) de folhas de <i>C. sylvestris</i> em função de quatro métodos de secagem.....	69
Figura 6	<i>C. sylvestris</i> . A - Planta adulta, localizada no Bosque do Campus Jardim Botânico, UFPR-Curitiba. B - Detalhe de ramo com inflorescência. C - Detalhe de ramo usado para estaquia.....	85
Figura 7	Estaquia de <i>C. sylvestris</i> nas quatro épocas do ano. A - Confecção de estacas. B - Estacas plantadas em tubetes e mantidas em casa de vegetação. C - Bandeja para avaliação das estacas enraizadas. D - Estacas de <i>C. sylvestris</i> enraizadas após tratamento com 2000 mg L^{-1} de AIB. E - Detalhe do sistema radicial de duas estacas enraizadas no final do verão/2008 com 3000 mg L^{-1} de AIB. F - Estaca de <i>C. sylvestris</i> enraizada após tratamento com 1000 mg L^{-1}	87
Figura 8	Estaquia de brotações de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> . A - Ramos de <i>C. sylvestris</i> com brotações. B - Estacas plantadas em tubetes e mantidas em casa de vegetação prestes a serem avaliadas. C - Detalhe do sistema radicial de estaca de <i>C. sylvestris</i> enraizada após tratamento com 1000 mg L^{-1} de AIB. D - Estacas de <i>C. sylvestris</i> enraizadas após tratamento com 2000 mg L^{-1} de AIB.....	106
Figura 9	Estaquia de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> . A - Decepta a 30 cm do solo. B - Plantas para decepta a 120 cm do solo. C - Plantas para poda de copa. D - Brotações de decepta a 30 cm do solo. E - Brotações de decepta a 120 cm do solo. F - Brotações de poda de copa.....	125
Figura 10	Estaquia de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> . A - Detalhe de estacas plantadas em tubetes e mantidas em casa de vegetação. B - Estacas de brotações de decepta a 120 cm enraizadas com 1500 mg L^{-1} de AIB. C - Estaca obtida de brotações de poda de copa, enraizada sem AIB. D - Detalhe de estacas de brotações de decepta a 30 cm enraizadas com 1500 mg L^{-1} de AIB.....	135
Figura 11	Miniestaquia de <i>C. sylvestris</i> A - Plantas a campo B - Detalhe de ramo de <i>C. sylvestris</i> com frutos C - Frutos de <i>C. sylvestris</i> D - Minijardim clonal E - Minicepa obtida de semente ao momento da primeira poda em setembro/2009.....	155

Figura 12	<p>Miniestaquia de <i>C. sylvestris</i> A - Confecção da miniestaca B - Bandeja com miniestacas de <i>C. sylvestris</i> coletadas em dezembro/2009 C - Miniestaca coletada em janeiro/2010 enraizada e brotada sem AIB D - Detalhe de sistema radicial de miniestaca de <i>C.</i> <i>sylvestris</i> coletada em abril/2009 e enraizada após tratamento com 2000 mg L⁻¹ de AIB E - Detalhe de brotação em miniestaca coletada em dezembro/2010 F - Miniestacas de <i>C. sylvestris</i> coletadas em dezembro/2010 enraizadas e brotadas com 2000 mg L⁻¹ de AIB.....</p>	163
Figura 13	<p>Porcentagem de enraizamento, mortalidade e brotações em estacas de plantas adultas, estacas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas e miniestacas de <i>C. sylvestris</i>.....</p>	179

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição do óleo essencial (%) de <i>C. sylvestris</i> em função dos meses de coleta das folhas.....	53
Tabela 2	Composição do óleo essencial (%) de <i>C. sylvestris</i> em função de quatro métodos de secagem das folhas coletadas em junho de 2009.....	71
Tabela 3	Porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade, porcentagem de folhas retidas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 e avaliadas aos 150 dias.....	86
Tabela 4	Número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 avaliadas aos 150 dias.....	91
Tabela 5	Porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliados aos 90 dias.....	92
Tabela 6	Porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.....	93
Tabela 7	Número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.....	93
Tabela 8	Porcentagem de estacas vivas sem calos e sem raízes, porcentagem de folhas e mortalidade em estacas <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no final do outono/2007 e no final do inverno/2007 e avaliadas aos 90 dias.....	95
Tabela 9	Porcentagem de enraizamento, número de raízes, comprimento das 3 maiores raízes, porcentagem de folhas retidas e mortalidade de estacas de brotações de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), avaliadas aos 180 dias.....	107
Tabela 10	Porcentagem de estacas enraizadas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), avaliadas aos 180 dias....	126
Tabela 11	Número de raízes por estaca de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	131
Tabela 12	Comprimento médio em cm das três maiores raízes de estacas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	133
Tabela 13	Massa seca das raízes de estacas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	134

Tabela 14	Porcentagem de folhas retidas em estacas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	136
Tabela 15	Porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com calos) de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	137
Tabela 16	Porcentagem de estacas vivas (sem raízes e sem calos), de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	138
Tabela 17	Porcentagem de estacas mortas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	139
Tabela 18	Produtividade média de brotações de <i>C. sylvestris</i> por minicepa, em cada coleta, nos anos de 2009 e 2010. (Primeira poda: 16/09/2009).....	157
Tabela 19	Porcentagem de miniestacas enraizadas de <i>C. sylvestris</i> sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico(AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.....	159
Tabela 20	Número médio de raízes de miniestacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico(AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.....	161
Tabela 21	Comprimento médio das três maiores raízes de miniestacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), em três meses dos anos 2009 e 2010 e avaliadas aos 90 dias.....	164
Tabela 22	Massa seca das raízes de miniestacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.....	166
Tabela 23	Número de folhas retidas em miniestacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.....	167
Tabela 24	Porcentagem de miniestacas de <i>C. sylvestris</i> brotadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.....	168
Tabela 25	Porcentagem de miniestacas de <i>C. sylvestris</i> vivas (sem raízes e com calos), sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.....	169
Tabela 26	Porcentagem de miniestacas de <i>C. sylvestris</i> vivas, (sem raízes e sem calos), sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.....	170
Tabela 27	Comparação geral entre os melhores resultados obtidos no enraizamento por estaquia de <i>C. sylvestris</i>	179

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Resultados da análise de variância para a porcentagem de δ elemeno, α cubebeno, ciclosativeno, α -copaeno e β bourboneno presentes no óleo essencial de folhas frescas de <i>C. sylvestris</i> coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.....	183
Anexo 2	Resultados da análise de variância para a porcentagem de β elemeno, α gurjuneno, trans-cariofileno, β gurjuneno e α -guaieino presentes no óleo essencial de folhas frescas de <i>C. sylvestris</i> coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.....	183
Anexo 3	Resultados da análise de variância para a porcentagem de α humuleno, seicheleno, germacreno D, β selineno e biciclogermacreno presentes no óleo essencial de folhas frescas de <i>C. sylvestris</i> coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.....	184
Anexo 4	Resultados da análise de variância para a porcentagem de germacreno A, γ -cadineno, cubebol, δ cadideno e germacreno B presentes no óleo essencial de folhas frescas de <i>C. sylvestris</i> coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.....	184
Anexo 5	Resultados da análise de variância para a porcentagem de espatulenol, óxido de cariofileno, epóxido II humuleno, 1 epi cubenol, epi- α cadinol e α -cadinol presentes no óleo essencial de folhas frescas de <i>C. sylvestris</i> coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.....	185
Anexo 6	Resultados da análise de variância para a porcentagem de δ elemeno, α cubebeno, ciclosativeno, α -copaeno e β bourboneno presentes no óleo essencial de de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de <i>C. sylvestris</i> coletadas em junho/2009.....	185
Anexo 7	Resultados da análise de variância para a porcentagem de β elemeno, α gurjuneno, trans-cariofileno, β gurjuneno e α -guaieino presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de <i>C. sylvestris</i> coletadas em junho/2009.....	186
Anexo 8	Resultados da análise de variância para a porcentagem de α humuleno, seicheleno, γ -muuroleno, germacreno D e β selineno presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de <i>C. sylvestris</i> coletadas em junho/2009.....	186
Anexo 9	Resultados da análise de variância para a porcentagem de e biciclogermacreno, α -bulneseno, germacreno A, γ -cadineno e cubebol, presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de <i>C. sylvestris</i> coletadas em junho/2009.....	187
Anexo 10	Resultados da análise de variância para a porcentagem de δ cadideno, germacreno B, espatulenol, óxido de cariofileno, guaiol e epóxido II humuleno, presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de <i>C. sylvestris</i> coletadas em junho/2009.....	187
Anexo 11	Resultados da análise de variância para a porcentagem de 1 epi cubenol, epi- α cadinol, α -cadinol, bulnesol e thunbergol presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de <i>C. sylvestris</i> coletadas em junho/2009.....	188

Anexo 12	Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade, porcentagem de folhas retidas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 e avaliadas aos 150 dias.....	188
Anexo 13	Resultados da análise de variância para as variáveis número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 avaliadas aos 150 dias.....	189
Anexo 14	Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliados aos 90 dias.....	189
Anexo 15	Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.....	190
Anexo 16	Resultados da análise de variância para as variáveis número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.....	190
Anexo 17	Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas vivas sem calos e sem raízes, porcentagem de folhas e mortalidade em estacas <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no final do outono/2007 e no final do inverno/2007 e avaliadas aos 90 dias.....	191
Anexo 18	Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de enraizamento, número de raízes, comprimento das 3 maiores raízes, porcentagem de folhas retidas e mortalidade de estacas de brotações de plantas adultas de <i>C. sylvestris</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.....	191
Anexo 19	Resultados da análise de variância para as variáveis estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento médio das 3 maiores raízes (cm), massa seca das raízes (mg) provenientes de brotações de decepta e de poda de <i>C. sylvestris</i> com 3 concentrações de AIB.....	192
Anexo 20	Resultados da análise de variância para as variáveis número de folhas, estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos) e estacas mortas provenientes de brotações de decepta e de poda de <i>C. sylvestris</i> com 3 concentrações de AIB.....	192
Anexo 21	Resultados da análise de variância para as variáveis miniestacas enraizadas, número de raízes por miniestaca, comprimento médio das 3 maiores raízes, massa seca das raízes (mg) em miniestacas de <i>C. sylvestris</i> em três meses do ano com três concentrações de AIB.....	193

Anexo 22	Resultados da análise de variância para as variáveis número de folhas, miniestacas brotadas, miniestacas vivas (sem raízes e com ou sem calos) de <i>C. sylvestris</i> em três meses do ano com três concentrações de AIB.....	193
Anexo 23	Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período maio de 2010 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica do município de Pinhais-PR e fornecidas pelo SIMEPAR, 2010.....	194
Anexo 24	Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período maio de 2010 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2010.....	195
Anexo 25	Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período maio de 2010 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2010.....	196
Anexo 26	Gráfico das precipitações e temperaturas médias mensais, no período de maio de 2007 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR.....	197

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1 A família Flacourtiaceae e o gênero <i>Casearia</i> Jacq.....	24
2.2 A espécie <i>Casearia sylvestris</i> Swartz.....	25
2.2.1 Importância ecológica e econômica.....	26
2.2.2 Importância farmacológica.....	30
REFERÊNCIAS	34
3 CAPÍTULO I PRODUÇÃO DE OLEO ESSENCIAL DE <i>Casearia sylvestris</i> Swartz EM CINCO ÉOCAS DE COLHEITA	41
RESUMO	41
ABSTRACT	42
3.1 INTRODUÇÃO	43
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	45
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
2.3.1 Teor do óleo essencial	48
3.3.2 Composição do óleo essencial	50
3.4 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS	57
4 CAPÍTULO II RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Casearia sylvestris</i> Swartz APÓS DIFERENTES TRATAMENTOS DE SECAGEM	62
RESUMO	62
ABSTRACT	63
4.1 INTRODUÇÃO	64
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	66
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.3.1 Teor do óleo essencial.....	68
4.3.2 Composição do óleo essencial.....	70
4.4 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS	75
5 CAPÍTULO III ESTAQUIA CAULINAR DE PLANTAS ADULTAS DE <i>Casearia sylvestris</i> Swartz NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO	79
RESUMO	79
ABSTRACT	80
5.1 INTRODUÇÃO	81
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	83
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	86

5.3.1 Enraizamento de estacas de <i>C. sylvestris</i> na primavera.....	86
5.3.2 Enraizamento de estacas de <i>C. sylvestris</i> no verão.....	91
5.3.3 Enraizamento de estacas de <i>C. sylvestris</i> no outono e no inverno.....	94
5.4 CONCLUSÕES.....	96
REFERÊNCIAS.....	97
6 CAPÍTULO IV ESTAQUIA DE BROTAÇÕES DE PODA DE PLANTAS ADULTAS DE <i>Casearia sylvestris</i> Swartz.....	101
RESUMO.....	101
ABSTRACT.....	102
6.1 INTRODUÇÃO.....	103
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	105
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	107
6.3.1 Porcentagem de estacas enraizadas.....	107
6.3.2 Número médio de raízes por estaca.....	109
6.3.3 Comprimento médio das três maiores raízes.....	109
6.3.4 Porcentagem de folhas retidas.....	110
6.3.5 Porcentagem de estacas mortas.....	112
6.4 CONCLUSÕES.....	113
REFERÊNCIAS.....	114
7 CAPÍTULO V ESTAQUIA BROTAÇÕES DE DECEPA E DE PODA DE PLANTAS ADULTAS DE <i>Casearia sylvestris</i> Swartz.....	118
RESUMO.....	118
ABSTRACT.....	119
7.1 INTRODUÇÃO.....	120
7.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	123
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	126
7.3.1 Porcentagem de estacas enraizadas.....	126
7.3.2 Número médio de raízes por estaca.....	130
7.3.3 Comprimento médio das três maiores raízes por estaca.....	132
7.3.4 Massa seca das raízes.....	133
7.3.5 Porcentagem de folhas retidas	135
7.3.6 Porcentagem de estacas vivas sem raízes e com calos.....	137
7.3.7 Porcentagem de estacas vivas sem raízes e sem calos.....	138
7.3.8 Porcentagem de estacas mortas.....	139
7.4 CONCLUSÕES.....	141
REFERÊNCIAS.....	142
8 CAPÍTULO VI MINIESTAQUIA DE <i>Casearia sylvestris</i> Swartz.....	147
RESUMO.....	147
ABSTRACT.....	148
8.1 INTRODUÇÃO.....	149

8.2 MATERIAL E MÉTODOS	152
8.2.1 Produtividade de brotações.....	153
8.2.2 Enraizamento de miniestacas.....	153
8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	156
8.3.1 Produtividade de brotações.....	156
8.3.2 Enraizamento de miniestacas.....	159
8.3.2.1 Porcentagem de miniestacas enraizadas.....	159
8.3.2.2 Número médio de raízes por miniestaca.....	160
8.3.2.3 Comprimento médio das três maiores raízes por miniestaca.....	162
8.3.2.4 Massa seca média das raízes.....	165
8.3.2.5 Número médio de folhas retidas.....	166
8.3.2.6 Porcentagem de miniestacas brotadas.....	167
8.3.2.7 Porcentagem de miniestacas vivas sem raízes e com calos.....	168
8.3.2.8 Porcentagem de estacas vivas sem raízes e sem calos.....	170
8.4 CONCLUSÕES	171
REFERÊNCIAS	172
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	177
10 CONCLUSÕES GERAIS	181
ANEXOS	182

1. INTRODUÇÃO

O Estado do Paraná até o início de 1900, possuía 83,4% dos seus 199.575 km² de superfície recoberto por uma exuberante vegetação; atualmente a porcentagem da floresta original é inferior a 8% do território (Maack, 1981; Lara Pires; Vargas, 1997; Dias *et al.*, 1998) e, segundo levantamentos realizados pela Secretaria Estadual do Meio Ambiente e Recursos Hídricos - SEMA-PR (Campos *et al.*, 2006), a cobertura vegetal estaria concentrada basicamente na Serra do Mar, Parque Nacional do Iguaçu e região Centro Sul.

Brown (2003) afirma que a capacidade produtiva das florestas mundiais declina à medida que se reduzem em mais de 9 milhões de hectares por ano, sendo a extração de madeira, o desmatamento para agricultura ou pecuária e a colheita de lenha os grandes responsáveis.

Segundo o Almanaque Brasil Socioambiental (Instituto Sócioambiental, 2005), a relação entre o crescimento populacional e o uso de recursos do planeta já ultrapassou em 20% a capacidade de reposição da biosfera e esse déficit aumenta cerca de 2,5% ao ano. Tal dado implica que a diversidade biológica, responsável pelo fornecimento de alimentos, novos princípios ativos e medicamentos, matérias e fibras lenhosas, dentre outros, estão sendo destruídos muito mais rápido do que sua reposição e esse desequilíbrio é crescente, existindo uma previsão de que em 20 anos, até 2030 cerca de 50% da biodiversidade poderá ter sido perdida.

Não obstante à criação das Unidades de Conservação, áreas especialmente protegidas para a preservação e manutenção da diversidade biológica local e o estabelecimento de um elo entre os principais remanescentes florestais (Lara Pires; Vargas, 1997), as florestas que margeiam os cursos de água, conhecidas como ciliares ou ripárias, praticamente não existem mais, restando apenas pequenos remanescentes com maior ou menor grau de perturbação (Campos *et al.*, 2006).

As espécies nativas, em oposição às plantas exóticas, raramente são cultivadas, sendo obtidas na quase totalidade das formações vegetais brasileiras por processos de extrativismo (Scheffer *et al.*, 2002). Dentre a grande quantidade de espécies brasileiras dotadas de aspectos comerciais importantes, e consumidas em grande escala, seja no mercado nacional como no internacional, se encontram o guaraná (*Paullinia cupana* Kunt), a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek), a pata-de-vaca (*Bauhinia* sp.), o ipê-roxo (*Tabebuia* sp.), a fáfia (*Pfaffia* sp), a erva-de-bicho (*Polygonum* sp.), o chapéu-de-couro (*Echinodorus* sp.), a catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss) e o chá-de-bugre (*Casearia sylvestris* Swartz) (Vieira; Silva, 2002).

Várias espécies estão listadas pelo IBAMA como plantas medicinais e são utilizadas e comercializadas, sendo precisamente 119 as espécies utilizadas, das quais 88 são nativas e 54 se reportam com uso medicinal (Klein, 1996).

C. sylvestris, por se tratar de uma planta nativa, propagada naturalmente por semente, é natural uma alta variabilidade genética. Tal variabilidade genética conjuntamente com fatores ambientais e fisiológicos afeta a biossíntese de metabólitos secundários na concentração do óleo de suas folhas. Neste âmbito o recurso da multiplicação vegetativa, que homogeniza os indivíduos e permite a seleção dos melhores, é de fundamental importância, visando à formação de um campo de matrizes clonais, com futura disponibilização de indivíduos selecionados para a produção específica dos componentes de maior importância farmacológica.

Os protocolos de propagação vegetativa para *C. sylvestris* disponíveis até agora na literatura, resultaram pouco satisfatórios em termos de porcentagem total de enraizamento e formação de novas brotações. O presente trabalho visa explorar as variações que podem influenciar o enraizamento de estacas, como época do ano, vigor e origem do material vegetal. O estudo realizado visa também fornecer uma noção da produção média de óleo essencial a partir de uma planta nativa, dado que, independentemente de futuras produções clonadas e dirigidas, é de fundamental importância dispor de dados a tal respeito, baseados em variáveis como concentração de óleo nas estações do ano, metodologia de colheita e extração.

Com o objetivo de estudar a produção sazonal do óleo essencial de *C. sylvestris* e os componentes presentes no mesmo, assim como a resposta de enraizamento de estacas e miniestacas de *C. sylvestris* para a viabilização da produção de mudas, foram realizados os experimentos apresentados nos seguintes capítulos:

No primeiro capítulo descreve-se a quantificação da produção de óleo essencial de *C. sylvestris* a partir de folhas frescas, coletadas nas quatro estações do ano, tendo como objetivo a identificação da melhor época de colheita.

O segundo capítulo aborda o condicionamento das folhas de *C. sylvestris* antes do processo de extração do óleo, visando determinar a melhor temperatura de secagem para aprimorar a obtenção de óleo.

No terceiro capítulo descreve-se a estaquia de material oriundo de plantas adultas e tem por objetivo estudar os efeitos da aplicação de ácido indol butírico (AIB), em solução alcoólica e em diferentes concentrações, no enraizamento de estacas caulinares de *C. sylvestris* coletadas nas quatro estações do ano.

O quarto capítulo descreve a estaquia do material brotado após as podas efetuadas para

a realização do primeiro experimento. O experimento visa testar a resposta do material rejuvenescido, em termos de formação de raízes e brotações, à aplicação de diferentes concentrações de AIB.

O quinto capítulo visa aprimorar o conhecimento sobre o comportamento de estacas de árvores adultas, submetidas a três diferentes tipos de podas. Objetiva-se avaliar o melhor tipo de material para a produção tanto de raízes quanto de novas brotações, após a aplicação de diferentes concentrações de AIB.

O sexto capítulo aborda a miniestaquia de brotações provenientes de plantas jovens de *C. sylvestris* obtidas por via sexuada. Tem por objetivo verificar a resposta de enraizamento de miniestacas de *C. sylvestris* coletadas em diferentes meses do ano, com o uso de diferentes concentrações de AIB.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A família Flacourtiaceae e o gênero *Casearia* Jacq.

O gênero *Casearia* pertence à família Flacourtiaceae (Corrêa, 1931, Sleumer, 1980; Cronquist, 1981; Joly, 1998), formada por aproximadamente 86 gêneros e cerca de 1300 espécies, encontradas especialmente nas regiões tropicais da América do Sul, e caracterizada por plantas lenhosas com folhas inteiras, de disposição alterna, com estípulas caducas, flores pequenas, esverdeadas, em inflorescências axilares, hermafroditas (Joly, 1998).

A família Flacourtiaceae, porém, foi recentemente desmembrada e os gêneros reclassificados em outras duas famílias já existentes: Salicaceae e Achariaceae (Chase *et al.*, 2002; APG II, 2003). Graças às novas tecnologias da biologia molecular baseadas em seqüências de DNA, e não apenas na semelhança morfológica entre táxons, o gênero *Casearia* foi incluído na família Salicaceae (APG II, 2003).

Mais especificamente, Chase *et al.* (2002), analisando seqüências de DNA de cloroplastos demonstraram que, filogeneticamente, a família Flacourtiaceae é na realidade composta por dois grupos monofiléticos, ou seja, originários de um ancestral comum ou clado, e pouco relacionados entre si, circunstância que fez redirecionar o gênero *Casearia* na acima citada família Salicaceae. Leskinen e Alström-Rapaport (1999) confirmaram tais análises moleculares relatando uma longa série de afinidades químicas, morfológicas e ecológicas entre Flacourtiaceae e Salicaceae.

O gênero *Casearia*, descrito por Jacquin (1760), está incluído na Tribo *Casearieae* Benth. e possui aproximadamente 180 espécies, das quais 75 espécies ocorrem nos neotrópicos, do México até a Argentina (Sleumer, 1980; Cronquist, 1981; Marquete; Vaz, 2007). Essa grande distribuição pelo continente americano indica uma grande capacidade adaptativa aos diversos habitats ocupados por esta espécie (Rossi *et al.*, 2009).

No Brasil, ocorrem aproximadamente 43 espécies, distribuídas em diversas formações vegetais: floresta ombrófila densa (amazônica e atlântica), savana (cerrado), savana estépica (caatinga), vegetação com influência marinha (restinga), floresta ombrófila mista (floresta de araucária), floresta de galeria e vegetação secundária, em altitudes que variam desde o nível do mar até 1800 m (Marquete; Vaz, 2007).

2.2 A espécie *Casearia sylvestris* Swartz

C. sylvestris é uma árvore perenifólia, heliófita, seletiva higrófila (Lorenzi, 1992), característica dos sub-bosques de pinhais (Britez, 2007), menos frequente na floresta ombrófila densa e rara na floresta estacional semidecídua (Lorenzi, 1992) com altura variando de 3 m até 9-18 m, dotada de copa densa e arredondada e tronco de 20-30 cm de diâmetro. Possui folhas oblongas ou ovado-oblongas de 4 cm a 14 cm de comprimento por 1 cm a 4 cm de largura; consistência membranácea a papirácea; totalmente glabras, um tanto assimétricas na base e dotadas de glândulas de óleo essencial sendo que nas descrições taxonômicas para o gênero é comum a utilização de termos como pontos translúcidos, pontuações transparentes, traços transparentes ou glândulas nas folhas (Torres; Yamamoto, 1986; Lorenzi, 1992; Chase *et al.*, 2002; Marquete; Vaz, 2007). As inflorescências são fasciculadas sésseis e os botões são obovados a globosos, sépalas de $1,5 \times 1-1,5$ mm, unidas na base, largamente ovadas, esverdeadas a alvacentas, glabras a tomentosas ou ciliadas na margem (Lorenzi, 1992; Marquete; Vaz, 2007). O fruto é de 4×4 mm, globoso, anguloso, negro, glabro, dotado de 5 sementes de $2,5 \times 1,5$ mm, oblongas, de testa alaranjada, arilo franjado e carnosos, envolvendo parcialmente a semente, a qual é alaranjada a vermelha, com endosperma crasso; o embrião apresenta aproximadamente 1,5 mm de comprimento (Marquete; Vaz, 2007).

Existem duas variedades para esta espécie, *C. sylvestris* var. *sylvestris* e *C. sylvestris* var. *lingua* (Sleumer, 1980), apesar da *C. sylvestris* var. *lingua* ter sido anteriormente considerada por Saint-Hilaire (1829), como uma espécie distinta (*C. lingua*). Esta variação pode ser decorrente de plasticidade fenotípica, a qual retrata a habilidade de um organismo alterar sua fisiologia e/ou morfologia em decorrência de sua interação com o meio ambiente (Rossi *et al.*, 2009). Vegetativamente, *C. sylvestris*, é muito semelhante a *C. obliqua* ou a *C. decandra* (Torres; Yamamoto, 1986). *C. sylvestris* apresenta variações morfológicas nas texturas de folhas entre os espécimes que ocorrem em áreas de cerrado e aqueles encontrados em áreas de matas (Botrel *et al.*, 2006).

C. sylvestris é amplamente difusa no México, América Central e Caribe assim como na maioria dos países da América do Sul, desde a Colômbia até a Argentina e Paraguai (Lorenzi, 1992).

C. sylvestris ocorre em todos os Estados e na maioria dos ambientes florestais, sendo uma espécie de alta densidade e ampla distribuição, especialmente em matas ciliares (Sleumer, 1980; Lorenzi, 1992; Durigan *et al.*, 2003; Marquete; Vaz, 2007).

No Brasil a espécie tem uma sinonímia botânica considerável, existem inúmeros nomes

populares por Unidades da Federação: no Acre, caferana; em Alagoas, caiubim e caiumbim; no Amazonas, saritan; Bahia: marinheiro, marinheiro-bravo, são-gonçalo e são-gonçalinho; Ceará: cabatão, café-brabo, café-bravo, guaçatonga, língua-de-tiú e pau-de-lagarto; Distrito Federal, erva-de-tiú e tiú; em Goiás, erva-de-teiú; em Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, chá-de-frade; em Minas Gerais, café-do-mato, cafezeiro-do-mato, erva-de-lagarto, erva-de-tiú, espeto, guaçatonga, língua-de-tiú e pau-de-lagarto; na Paraíba, caiubim, carniceiro e espeto; no Paraná, baga-de-pomba, café-de-bugre, cafezeiro-bravo, cafezeiro-do-mato, erva-de-lagarto, erva-de-macuco, guassatunga e vaçatunga; Pernambuco: caiubim, caiubim-branca, caubim e quaiubim; no Estado do Rio de Janeiro, arco-de-pipa, guaçatonga e guaçatunga; Rio Grande do Norte: ramo-de-carne; no Rio Grande do Sul, café-de-bugre, cafezeiro-do-mato, carvalhinho, chá-de-bugre, erva-de-bugre, erva-de-pontada, guaçatunga e varre-forno; Rondônia: breu-de-tucano; Santa Catarina: cafeeiro, cafeeiro-do-mato, cafezeiro e erva-de-lagarto; São Paulo, café-bravo, café-do-diabo, cafezinho-do-mato, canela-de-veado, erva-de-lagarto, erva-de-macuco, fruta-de-pomba, guaçatonga, lagarteira, lagarteiro, língua-de-tiú, mata-gado e pau-de-lagarto; Sergipe: camarão (Sleumer, 1980; Torres; Yamamoto, 1986; Marquete; Vaz, 2007).

Alguns exemplos de nomes vulgares no exterior são: na Bolívia, cusé; no Paraguai, cafecillo cimarrón e hierba de burro ou burro ka; no Uruguai, guazatunga; em Cuba aguedita macho e sarnilla (Carvalho, 2007; Barreto *et al.*, 2008).

O nome genérico Casearia é em homenagem ao missionário holandês Casearius (Klein; Sleumer, 1984); o epíteto específico *sylvestris* vem do latim *sylvestris*, da floresta ou silvestre e o nome comum guaçatonga é uma denominação de origem tupiguarani (Güntzel, 2008).

2.2.1 Importância ecológica e econômica

C. sylvestris, devido à sua importância econômica e pelo seu uso popular, foi citada como prioritária na lista das espécies a serem investigadas, para a implantação de futuros planos de conservação e manejo sustentável, na 1ª Reunião Técnica sobre Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas – Estratégias para Conservação e Manejo Sustentável, realizada em Brasília (IBAMA, 1998; Vieira; Silva, 2002, 2002).

Como a maioria das espécies nativas do Brasil, *C. sylvestris* Sw. não é cultivada, e sua exploração extrativista ocorre em virtude do comércio em ampla escala no mercado brasileiro ou no exterior, pois é utilizada como espécie adulterante de *Cordia salicifolia*, popularmente conhecida como porangaba, sendo comercializada com potencial ação emagrecedora,

umentando a ação antrópica sobre a espécie (Facanali, 2004).

C. sylvestris encontra-se dentre as espécies nativas e pioneiras, colonizadoras de matas ciliares e consideradas na aplicação das estratégias de restauração nas florestas mistas de Araucaria nas diferentes regiões do Estado do Paraná (Melo; De Britez, 2004; Britez, 2007).

As áreas de ocorrência da espécie (Mata Atlântica e Cerrado) vêm desaparecendo pela ação antrópica (Cardoso-Leite *et al.*, 2004), colocando em perigo a sobrevivência de espécies nativas desses biomas. *C. sylvestris* naturalmente propaga-se por sementes (Lorenzi, 1992), no entanto, estudos demonstraram que sua propagação vegetativa também é viável, facilitando o plantio de pomares clonais e visando a padronização da matéria prima (Imatomi, 2007; Cavallari, 2008).

Essa espécie é recomendada para restauração de matas ciliares (Lorenzi, 2002), onde suporta inundação e encharcamento; as matas ciliares referem-se à vegetação florestal localizada às margens de cursos de água, independentemente de sua extensão ou da região de ocorrência, ou ainda da sua composição florística (Panichi da Veiga *et al.*, 2003). Segundo Lorenzi (2002) o desenvolvimento inicial da muda é rápido formando raízes fasciculadas, as quais abrangem uma grande quantidade de terreno, evitando o deslocamento das mudas nas cheias (Barbosa, 2000). *C. sylvestris* é usada, também, na revegetação natural de terrenos sujeitos a erosão, especialmente aqueles expostos a chuva e intempéries como as voçorocas assim como em terrenos mais úmidos por ela se encontrar entre as espécies tolerantes a locais com nível do lençol freático mais alto (Farias *et al.*, 1993; Araujo *et al.*, 1997).

C. sylvestris produz floradas maciças, com perfume de mel, sendo importante fonte melífera e intensamente visitadas por abelhas com ferrão (*Apis mellifera*) e sem ferrão (meliponíneos) (Lorenzi, 1992; Ramalho, 2004; Soares *et al.*, 2007). A floração ocorre de maio a dezembro, no Estado de São Paulo (Ramalho, 2004); de junho a julho, em Minas Gerais (Brina, 1998); de junho a novembro, no Paraná (Carvalho, 1980); em agosto, em Mato Grosso do Sul (Pott; Pott, 1994) e de setembro a outubro, no Rio Grande do Sul (Backes; Nardino, 1998). Segundo Backes e Irgang (2004), é uma das poucas espécies arbóreas melíferas de inverno. Além da importância para a fauna apícola as folhas dessa espécie fazem parte da dieta alimentar do macaco-bugio ou guariba (*Alouatta guariba*) (Vasconcelos; Aguiar, 1982).

A madeira de *C. sylvestris* é de baixo valor comercial (Lorenzi, 1992). Contudo, segundo Baggio e Carpanezi (1998), na região metropolitana de Curitiba, PR, a madeira da espécie é utilizada para cabos de ferramentas ou de utensílios. No Estado do Rio de Janeiro é também usada para construção civil, tacos e tábuas para assoalho, marcenaria, carpintaria

lenha e carvão (Nogueira, 2008). Como árvore é considerada própria para plantio em vias públicas assim como para arborização de ruas estreitas sob redes elétricas, proporcionando ótima sombra (Lorenzi, 1992; Guizzo; Jasper, 2005).

A relevância econômica de *C. sylvestris* foi determinada com os primeiros estudos farmacológicos da espécie *C. sylvestris* foi inscrita na Farmacopéia Brasileira I, já em 1926, onde foi reconhecido o seu emprego como cicatrizante, hemostático e anestésico de lesões da pele e mucosa (Silva, 1926). Pio Corrêa (1931), incluiu a espécie no seu “Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas”, sempre se baseando na tradição de uso popular das folhas e casca da árvore.

Baseados em tais descrições e em documentos sobre outras espécies pertencentes à família das Flacourtiaceae (primeira classificação do gênero *Casearia*) como os estudos de Khulmann (1928) e Possolo e Ferreira (1949) no emprego de espécies da família no tratamento da lepra, uma série de pesquisadores começou a investigar a vasta potencialidade de *C. sylvestris*. Silva e Bauer (1970) foram os primeiros a estudar a potencialidade de *C. sylvestris* como planta da flora do Estado do Rio Grande do Sul fornecedora de óleo essencial, publicando os primeiros dados sobre a produção de óleo e a sua composição. Scavone *et al.* (1979) localizaram a posição das glândulas de óleo essencial no mesófilo das folhas de *C. sylvestris*, determinaram o teor de óleo essencial (de 2,1% em relação à droga seca) e finalmente testaram em camundongos as propriedades cicatrizantes da folha, recomendando a aplicação regular da tintura no tratamento de feridas e afecções orofaríngeas. A partir desse trabalho iniciaram-se pesquisas das diferentes propriedades de *C. sylvestris* para a inclusão de seus extratos em remédios produzidos em larga escala.

Recentemente a venda de produtos fitoterápicos a base de *C. sylvestris* tanto em farmácias de manipulação quanto em lojas virtuais para compra pela Internet, tem incrementado de modo considerável. A empresa *Oficina de Ervas* de São Paulo oferece folhas de *C. sylvestris* na forma de extrato fluido, cápsulas, tintura ou chá, com preços que variam de R\$ 13,83/kg para as folhas secas até R\$ 358,00/L de extrato fluido, indicando-a no tratamento de gastrite, aftas e mau hálito (*Oficina de Ervas*, 2010). Outras formulações como sabonetes líquidos, sabonetes glicerizados, pasta de dentes e cremes são comercializados na Internet para a cicatrização de feridas da pele e boca, para o combate à herpes e como anti-inflamatório para picadas de insetos pela empresa Laboratório Panizza com preços em torno de R\$ 24,50 por 50 g de creme (R\$ 490,00/kg) (*Laboratório Panizza*, 2010).

Os medicamentos fitoterápicos movimentam no Brasil, segundo projeções do Instituto Brasileiro de Plantas Mediciniais (IBPM) (2009), cerca de US\$ 500 milhões por ano, com

previsões de que até 2010 se atinja aproximadamente US\$ 1 bilhão, o que constitui um importante nicho de mercado para a agricultura familiar e orgânica. O cultivo sistemático e racionalizado de *C. sylvestris*, pode ser vantajoso do ponto de vista econômico e ecológico.

Foi encontrada apenas uma referência específica sobre a cadeia produtiva de *C. sylvestris* como planta medicinal na área metropolitana de Curitiba, Paraná. O processo de obtenção de *C. sylvestris* pode se dar de duas formas: extrativa ou por meio de cultivos. A forma mais comum de exploração é extrativista, realizada em sua maioria por pessoas que saem à procura de propriedades onde existam árvores de *C. sylvestris*, colhendo o material vegetal com a permissão do proprietário (Balzon *et al.*, 2008).

Segundo Balzon *et al.* (2008) em média, os grupos coletores, com até quatro pessoas, colhem 3000 kg de folhas verdes por semana, que depois de secas pesam 500 kg e a mão-de-obra é remunerada à base de R\$ 0,15 por kg seco. Em seguida a cadeia produtiva continua com os primeiros intermediários, segundos intermediários, laboratórios ou indústrias (atacadistas) e finalmente os varejos; nesse processo o preço do produto na forma de folhas secas passa dos R\$ 0,55/kg, pagos aos coletores, aos R\$ 56 kg ou litro de folhas secas rasuradas ou de tintura alcoólica, a venda nas farmácias de manipulação, segundo preços de 2008.

A diferença tão grande de preço pode ser parcialmente justificada pelos diversos processos que exigem tecnologias e equipamentos indispensáveis para a obtenção de um produto final de qualidade, contudo, o *markup* total de comercialização (quanto do preço do produto está acima do seu custo de produção e distribuição) entre o coletor e o consumidor final atinge 10082,00 % ou seja, o consumidor final chega a pagar 10082,00 % a mais do que o preço pago ao produtor. Tais dados evidenciam bem o abandono das atividades de colheita e produção da espécie por parte de coletores e produtores, desmotivados com a baixa remuneração do trabalho (Balzon *et al.*, 2008). Os autores finalmente constataram que é necessária a padronização do produto por meio de possíveis cultivares, a introdução de novos modelos de regulação, gestão e conhecimento sobre plantio e comércio, estimulando assim todos os segmentos da cadeia produtiva, especialmente produtores e coletores (Balzon *et al.*, 2008). Neste âmbito a ausência de dados mais precisos sobre a propagação vegetativa e das épocas melhores do ano para a extração de óleo essencial de *C. sylvestris* compromete tanto as pesquisas de melhoramento genético da espécie e a produção de mudas quanto o aperfeiçoamento das técnicas extrativas e a exploração a nível industrial da planta.

Entre as técnicas mais utilizadas para a produção massal de mudas encontra-se a estaquia. A propagação de plantas por estaca diminui o tempo de obtenção das mudas, além

disso possibilita a redução da fase juvenil e, por consequência, a antecipação do florescimento e da entrada em produção da planta, assim como fornecendo maior uniformidade e qualidade de enraizamento. A utilização de reguladores vegetais, dentre os quais se destaca o ácido indol butírico (AIB), pode levar a um aumento na formação de raízes adventícias, proporcionando maior porcentagem, velocidade e uniformidade de enraizamento. Porém, algumas espécies apresentam grande recalcitrância ao enraizamento mesmo se tratadas com regulador vegetal, especialmente se é utilizado material vegetal proveniente de plantas matrizes adultas, cuja idade fisiológica da planta é maior (Hartmann *et al.*, 2002). Para evitar as características negativas derivantes da idade fisiológica avançada de plantas adultas, podem ser usados métodos de rejuvenescimento da planta matriz, ou seja, efetuando a reversão da fase adulta à fase juvenil e instaurando novamente o vigor necessário para o enraizamento (Higashi *et al.*, 2000; Wendling; Xavier, 2001; Hartmann *et al.*, 2002).

O rejuvenescimento ocorre naturalmente durante a reprodução sexuada, contudo, durante a propagação vegetativa o rejuvenescimento também pode ocorrer por meio de varias técnicas dentre as quais a poda drástica e a propagação seriada via estaquia (Higashi *et al.*, 2000). Pela parte relativa à produção de óleo essencial cabe notar que plantas advindas de sementes apresentam grande variabilidade quanto à morfologia e ao teor de metabólitos (Pereira *et al.*, 2006) o que torna preferível o rejuvenescimento por meio de propagação vegetativa, facilitando a seleção daqueles exemplares com as melhores características produtivas do ponto de vista qualitativo e quantitativo.

2.2.2 Importância farmacológica

C. sylvestris tem uma longa história de utilização na medicina fitoterápica brasileira sendo documentada nos primeiros livros de uso popular (Hoehne *et al.* 1941; Coimbra, 1958). Desde então a bibliografia reporta múltiplos usos de *C. sylvestris*, com um número crescente de aplicações a estudos cada ano, especialmente de tipo farmacológico. Hohene em 1939 no seu “Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais” citou *C. sylvestris* como anti-séptico e cicatrizante para doenças de pele e junto com Kuhlmann e Handro, em 1941, no volume Jardim Botânico de São Paulo, como anestésico tópico. Coimbra (1958) fez a primeira citação de *C. sylvestris* como droga antiulcerosa nas suas “Notas de fitoterapia”.

Contudo, o grande interesse em *C. sylvestris* por parte da comunidade científica, e, especialmente, por parte da indústria farmacêutica, surgiu após a descoberta de seus diterpenos clerodânicos, uma nova classe de metabólitos secundarios do tipo “antifeedant”

(Gebbinck *et al.*, 2002), e de sua possível ação no tratamento do câncer. Em 1988 pesquisadores da Faculdade de Farmacognosia e Farmácia de Tóquio, publicaram uma pesquisa preliminar sobre as atividades citotóxicas e antitumoral de extrato de etanol de folhas de *C. sylvestris*. Foi confirmada uma forte atividade antitumoral em sarcomas induzidos em camundongos de laboratório, bem como a descoberta e descrição de uma nova classe de diterpenos chamados clerodânicos (Itokawa *et al.*, 1988). Tais diterpenos documentados em *C. sylvestris* foram denominados casearinas (A até F) (Itokawa *et al.*, 1990).

Após a descoberta das casearinas como novos agentes antitumorais, em 1989 foi registrada a patente sobre o achado pelo mesmo grupo de pesquisa japonês (Itokawa, 1989). Nos anos seguintes os mesmos pesquisadores continuaram os testes das casearinas contra vários tipos de células cancerígenas, publicando mais dois estudos e confirmando as atividades antitumorais e citotóxicas de *C. sylvestris* contra tumores cancerígenos (Morita *et al.*, 1991; Itokawa *et al.*, 1992).

Não obstante a detenção da patente, os pesquisadores japoneses não realizaram publicações adicionais suspendendo talvez os estudos sobre a planta. Em 1998, porém, foram descobertas por pesquisadores da Universidade Estadual de São Paulo e da Universidade da Virgínia dois novos tipos de casearinas bioativas denominadas S e T, não descritas precedentemente pelos japoneses e portanto livres de patente, sendo tal estudo o primeiro em descrever a atividade modificadora do DNA dos diterpenos clerodânicos (De Carvalho *et al.*, 1998). Em 2002, pesquisadores da Carolina do Norte descobriram três novas casearinas nas folhas e ramos de *C. sylvestris*. Os novos princípios ativos foram chamados casearvestrinas A, B e C e demonstraram ter bioatividade citotóxica em células tumorais e antifúngica em *Aspergillus niger* (Oberlies *et al.*, 2002).

Estudos recentes revelam que, mesmo as casearinas não fazendo ainda parte na composição de medicamentos, novas aplicações estão sendo continuamente testadas. Santos *et al.* (2010) compararam a atividade citotóxica dos novos diterpenos clerodânicos caseargrewiina F e casearina X, junto com os compostos já conhecidos casearina B, D, L e O em células humanas normais e cancerígenas das linhas MOLT-4 (leucemia), MDA-MB-435 (melanoma), HCT-8 (colon), SF-295 (glioblastoma) e L-929 (fibroblastos). Como resultado os diterpenos isolados, especialmente a caseargrewiina F e casearina X, apresentaram uma seletiva atividade citotóxica em todas as células cancerígenas testadas. Ferreira *et al.* (2010) seguindo, entre outros, quanto descrito por Santos *et al.* (2010), determinaram que a casearina X causa a morte das células cancerígenas das linhas CEM e HL-60 (leucemia) por meio de apoptose (ou seja morte celular não seguida de autólise) corroborando a potencialidade das

casearinas como compostos promissores na luta contra o câncer.

A presença de diterpenos clerodânicos citotóxicos foi demonstrada em outras espécies do gênero *Casearia*, como por exemplo, as casearborinas A-E em *C. arborea* (Beutler, 2000) e as casearlucinas A-K em *C. lucida* com comprovada atividade citotóxicas em células da serie A2780 de câncer de ovários (Sai Prakash *et al.*, 2002). Em 1990, Basile e seu grupo de pesquisa da Universidade de São Paulo, baseados na longa história de uso de *C. sylvestris* na Fitoterapia como remédio antiulceroso investigaram a atividade preventiva antiúlcera, assim como o potencial toxicológico das folhas. Utilizando um modelo experimental de úlcera aguda induzida por estresse em ratos concluíram que o extrato alcoólico de folhas da *C. sylvestris* exerceu um efeito antiúlcera preventivo por meio de reduções no volume gástrico e na produção de ácido clorídrico (Basile *et al.*, 1990). A ação farmacológica do extrato alcoólico de *C. sylvestris*, segundo Sertié *et al.* (2000) pode ser devida ao conteúdo de óleos voláteis, taninos e triterpenes presentes nas folhas.

A partir de abordagens farmacológicas de plantas recomendadas pela medicina folclórica como antiofídicas foram testadas as propriedades analgésicas e antiinflamatórias de folhas e casca de *C. sylvestris*, as quais demonstraram ter uma elevada ação analgésica (90,24% de contorções inibidas no período avaliado) e uma moderada ação antiinflamatória (54% de inibição pelo teste Evans blue na cavidade peritoneal) em camundongos (Ruppelt *et al.*, 1991).

Uma das aplicações populares de *C. sylvestris* mais curiosas é contra a picada de cobras. Segundo as crendices, lagartos nunca enfrentam uma cobra sem ter por perto um pé de “pau-de-lagarto” para curarem-se com suas raízes em caso de mordida (Corrêa, 1975). As propriedades antiofídicas do extrato de folhas de *C. sylvestris* foram amplamente testadas comprovando as propriedades anticoagulantes e inibidoras das fosfolipases A₂ presentes no veneno de várias espécies de *Bothrops*, *Crotalus* e *Micrurus* bem como de *Apis* (Borges *et al.*, 2001; Raslan *et al.*, 2002); posteriormente foi demonstrada a atividade antihemorrágica e antiproteolítica do extrato aquoso das folhas de *C. sylvestris* coadjuvantes na ação antiofídica da espécie (Borges *et al.*, 2001). Tem sido hipotizado um fitocomplexo de compostos fenólicos, polifenólicos (ácido elágico) e flavonoides (rutina), responsáveis pela neutralização dos efeitos neurotóxicos e miotóxicos do veneno de *Bothrops* (Cintra-Francischinelli *et al.*, 2008; Da Silva *et al.*, 2008).

Posteriores usos de *C. sylvestris*, todos baseados na tradição fitoterápica popular são antioxidante (Menezes *et al.*, 2004), antiinflamatória, graças ao conteúdo em óleo essencial (Esteves *et al.*, 2005); antinociceptiva e analgésica; diminuindo a sensibilidade a estímulos

dolorosos estimulando o sistema opióide endógeno em ratos (De Mattos *et al.*, 2007); anti-herpes e cicatrizante (Camargo *et al.*, 1993; Costa Cury, 2005); antibacteriana contra bactérias resistentes (*Bacillus cerus* e *B. subtilis*) porém inatividade contra outras bactérias comuns como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, e *E. coli* (Chiappeta *et al.*, 1983; De Almeida, 2000); abortiva, induzindo sensivelmente a atividade uterina e a frequência das contrações em ratas (Silva *et al.*, 1988).

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, G. M.; GUIMARÃES, A. J. M.; NAKAJIMA, J. N. Fitossociologia de um remanescente de mata mesófila semidecídua urbana, Bosque John Kennedy, Araguari, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 20, n. 1, p. 67-77, 1997.
- APG II: An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, p. 399-436. 2003.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Mata Atlântica: as árvores e a paisagem**. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2004. 393 p.
- BAGGIO, A. J.; CARPANEZZI, A. A. **Exploração seletiva do sub-bosque: uma alternativa para aumentar a rentabilidade dos bracingais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, Circular Técnica, n. 28, 1998. 17 p.
- BALZON, D. R.; SANTOS, A. J. dos; CORRÊA JÚNIOR, C.; BITTENCOURT, A. M.; ALMEIDA, A. N. Cadeia produtiva do chá-de-bugre (*Casearia sylvestris*) na região Metropolitana de Curitiba – Paraná. **Floresta**, v. 38, n. 4, p. 617-624, 2008.
- BARBOSA, L. M. Considerações gerais e modelos de recuperação de formações ciliares. . p. 289-312. *In*: RODRIGUES, R.R.; LEITÃO FILHO, H. F. (Ed.). **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: Edusp, 2000. 320 p.
- BARRETO, V. A.; ÁVILA, H.J.; ENRIQUEZ, S. N.; OVIEDO, R.; TOSCANO, B. L.; REYES, A. G. Flora y vegetación de la propuesta de reserva florística manejada “Meseta de San Felipe”, Camagüey, Cuba. **Foresta Veracruzana**, v. 10, n. 1, p. 9-24, 2008.
- BASILE, A. C.; SERTIE, J. A. A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C. A. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I: preventive antiulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, p. 185-197, 1990.
- BEUTLER, J. A., Novel cytotoxic diterpenes from *Casearia arborea*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 5, p. 657- 661, 2000.
- BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIÉRREZ, J. M.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 127, p. 21–30, 2000.
- BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; OLIVEIRA, F.; FRANSCHESCHI, A. M.; RUCAVADO, A.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I. Neutralization of proteases from *Bothrops* snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon**, v. 39, p. 1863–1869, 2001.
- BOTREL, R. T.; RODRIGUES, L. A.; GOMES, L. J.; CARVALHO, D. A. de; FONTES, M. A. L. Uso da vegetação nativa pela população local no município de Ingaí, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 143-156, 2006.

BRITZ, de R. M., Aspectos ambientais a serem considerados na restauração da Floresta com Araucária no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 55, p. 37-43, 2007.

BROWN, L. R. **Eco-Economia**: construindo uma economia para a terra. Salvador: Universidade Livre da Mata Atlântica, 2003. 437 p.

CAMARGO, F. G.; GOMES, E.; PANNUNZIO, E.; BUENO, V. S. Uso tópico de extrato fluido de folha de guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz) topicamente em lesões de estomatite herpética. **Lecta**, v. 11, n. 1, p. 121-127, 1993.

CAMPOS, J. B.; TOSSULINO, M. de G. P.; MULLER, C. R. C. **Unidades de conservação**: Ações para valorização da biodiversidade. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2006. 348 p.

CARDOSO-LEITE, E.; COVRE, T. B.; OMETTO, R. G.; CAVALCANTI, D. C.; PAGANI, M. I. Fitossociologia e caracterização sucessional de um fragmento de mata ciliar, em Rio Claro/SP, como subsídio à recuperação da área. **Revista do Instituto Florestal**, v. 16, n. 1, p. 31-41, 2004.

CARVALHO, P. E. R. **Cafezeiro-do-Mato - *Casearia sylvestris***. Colombo: EMBRAPA-CNPF, Circular Técnica, n. 138, 2007. 16 p.

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

CHASE, M. W.; ZMARTZTY, S.; LLEDÓ, D.; WURDAC, K. J.; SWENSEN, S. M.; FAY, M. F. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. **Kew Bulletin**, v. 57, p. 141-181, 2002.

CHIAPPETA, A. D. A.; FRANCISCO DE MELLO, J.; MACIEL, G. M. Higher plants with biological activity-plants of Pernambuco. **Revista do Instituto Antibiotia**, v. 21, n. 1/2, p.43-50, 1983.

CINTRA-FRANCISCHINELLI, M.; SILVA, M. G.; ANDREO-FILHO, N.; GERENUTTI, M.; CINTRA, A.C.O.; GIGLIO, J.R.; LEITE, G.B.; CRUZ-HÖFLING, M.A.; RODRIGUES-SIMIONI, L.; OSHIMA-FRANCO, Y. Antibiothropic Action of *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae) Extracts. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 6, p. 784-790, 2008.

COIMBRA, R. **Notas de fitoterapia**. Rio de Janeiro: Laboratório Clínico Silva Araújo, 1958. 105 p.

CORREIA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministerio da Agricultura. 1931. 707 p.

CORREA, M. P. **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. v. 4, Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1975. 65 p.

COSTA CURY, V. G. **Eficácia terapêutica da *Casearia sylvestris* sobre herpes labial e perspectiva de uso em saúde coletiva**. 2005. 49 f. Dissertação (Mestrado Profissional)

Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2005.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. 1981. 1262 p.

DA SILVA, S. L.; CALGAROTTO, A. K.; CHAAR, J. S.; MARANGONI, S. Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia sylvestris* SW aqueous extract with anti-PLA2 activity. **Toxicon**, v. 52, p. 655–666, 2008.

DE ALMEIDA ALVES, T. M., "Biological screening of Brazilian medicinal plants." **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p. 367-73, 2000.

DE CARVALHO, P. R. F.; FURLAN, M.; YOUNG, M. C. M.; KINGSTON, D. G. I.; BOLZANI, V. D. S. Acetylated DNA-damaging clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 6, p. 1659-1662, 1998.

DE MATTOS, E. S., FREDERICO, M. J., COLLE, T. D., DE PIERI, D. V., PETERS, R. R., PIOVEZAN, A. P. Evaluation of antinociceptive activity of *Casearia sylvestris* and possible mechanism of action. **Journal of ethnopharmacology**, v. 1, n. 112, p. 1-6, 2007.

DIAS, M. C.; VIEIRA, A. O. S.; NAKAJIMA, J. N.; PIMENTA, J. A.; CARNEIRO LOBO, P. Composição florística e fitossociologia do componente arbóreo das florestas ciliares do rio Iapó, na bacia do rio Tibagi, Tibagi, PR. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 2, 1998.

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A. The vegetation of priority areas for cerrado conservation in São Paulo State, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 217-241, 2003.

ESTEVES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G.; SANTOS, L. S.; SERTIE, J. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 191–196. 2005.

FACANALI, R. **Ecologia de populações de espécies prioritárias para conservação e uso: Um estudo de caso usando como modelo a *Casearia sylvestris* Sw**. Monografia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. 2004. 18 p. Disponível em: <<http://www.ib.unicamp.br/profs/fsantos/nt238/2004/Monografias/Monografia-Roselaine.pdf>> Acesso em: 1 nov. 2010.

FARIAS, C. A.; RESENDE, M.; DE BARROS, N. F.; DA SILVA, A. F. Dinâmica da revegetação natural de voçorocas na Região de Cachoeira do Campo, Município de Ouro Preto-MG. **Revista Árvore**, v. 17, n. 3, p. 314-326, 1993.

FERREIRA, P. M., SANTOS, A. G., TININIS, A. G., COSTA, P. M., CAVALHEIRO, A. J., BOLZANI, V. S., MORAES, M. O., COSTA-LOTUFO, L. V., MONTENEGRO, R. C., PESSOA, C. Casearin X exhibits cytotoxic effects in leukemia cells triggered by apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 187, n. 2, 2010. Cópia não impressa. Disponível em: < > Acesso em: 12 set. 2010

GEBBINCK, E. A. K.; JANSEN, B. J. M.; GROOT, A. Insect antifeedant activity of clerodane diterpenes and related model compounds. **Phytochemistry**, v. 61, n. 7, p. 737-770, 2002.

GUIZZO, D. J., JASPER, A. Levantamento das espécies arbóreas dos passeios das vias públicas do bairro americano de Lajeado - RS, com indicação de solução de problemas já existentes. **Pesquisa Botânica**, n. 56, p. 185-208, 2005.

GÜNTZEL A. R. C. **Avaliação das atividades farmacológicas de extrato de *Casearia sylvestris* Sw.** 2008. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento). Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento, Centro Universitário Univates, Lajeado, 2008.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices.** 7ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil.** Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, Piracicaba, Circular Técnica, n. 192, 2000.

HOEHNE, F.C., KUHLMANN, M., HANDRO, O. **O Jardim Botânico de São Paulo.** São Paulo: Secretaria da Agricultura. 1941. 656 p.

IBAMA, Portaria Plantas Medicinais. 1998. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/flora/portarias.htm>> Acesso em: 10/03/10.

IBPM – Instituto Brasileiro de Plantas Medicinais, 2009. Disponível em: < www.ibpm.org.br > Acesso em. 12/09/10

IMATOMI, M. **Interferência de fatores bióticos e abióticos na propagação e conservação de *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae).** 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

INSTITUTO SÓCIOAMBIENTAL. **Almanaque Brasil Socioambiental.** São Paulo: Instituto Sócioambiental, 2005. 479 p.

ITOKAWA, H. Isolation of diterpenes as antitumor agents from plants. **Patent**, Japan Kokai Tokyo Koho-01, v. 149, n. 779, 6 p. 1989.

ITOKAWA, H.; TAKEYA, K.; WATANABE, K.; MORITA, H.; ICHIHARA, Y.; TOTSUKA, N.; SHIROTA, O.; IZUMI, H.; SATAKE, N.; YASUDA, I.; SANKAWA, U.; MOTIDOME, M.; FLORES F.A. Antitumor substances from South American plants. **Journal of Pharmacology and Bio-Dynamics**, v. 15, n. 1, p. 1-11, 1992.

ITOKAWA, H., TOTSUKA, N.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; IITAKA, Y.; SCHENKEL, E.P.; MOTIDOME, M. New antitumor principles, casearins A-F, for *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 3384-3388, 1990.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; TAKEYA, K.; WATANABE, K.; OBATA, E. Antitumor principles from *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), structure elucidation of new

clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 4, p. 1585-88, 1988.

JACQUIN, N.J. **Enumeratio Systematica Plantarum Insulis Caribaeis**, v. 1, n. 41. 1760.

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

KLEIN, R. M.; SLEUMER, H. O. **Flora ilustrada catarinense**: Flacourtiáceas. Itajaí: FLAC, 1984. 96 p.

KLEIN, R. **Espécies raras ou ameaçadas de extinção**: Estado de Santa Catarina. Rio de Janeiro: IBGE. v. 2, 1996. 170 p.

KUHLMANN, J. G. Monographia das espécies brasileiras dos gêneros da tribo Oncobeeae: *Carpotroche*, *Mayna* e *Lindackeria*, (Flacourtiaceas) cujas sementes contêm um óleo análogo ao obtido das sementes da Chaulmoogra. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 21, p. 389-402, 1928.

LABORATORIO PANIZZA, 2010. Disponível em: < <http://www.panizza.com.br>.> Acesso em: 25/10/2010

LARA PIRES, P. T.; VARGAS, M. J. P. As unidades de conservação e a floresta ombrófila mista no estado do Paraná. **Revista Floresta**, n. 25, p. 71-77, 1997.

LESKINEN, E.; ALSTRÖM-RAPAPORT, C. Molecular phylogeny of Salicaceae and closely related Flacourtiaceae: evidence from 5.8S, ITS1, and ITS2 of the rDNA. **Plant Systematics and Evolution**, v. 215, p. 209–227, 1999.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992. 115 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v. 1, 2002. 131 p.

MAACK, R. **Geografia Física do norte do Paraná**. 2ªed. Rio de Janeiro: Livraria José Olympio/Secretaria da Cultura e Esporte do Governo do Paraná. 1981. 350 p.

MARQUETE, R.; VAZ, A. M. S. F. da. O gênero *Casearia* no estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, n. 58, v. 4, p. 705-738, 2007.

MENEZES, P. R.; SCHWARZ, E. A.; SANTOS, C. A. M. In vitro antioxidant activity of species collected in Paraná. **Fitoterapia**, v. 75, p. 398-400, 2004.

MORITA, H.; NAKAYAMA, M.; KOJIMA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H.; SCHENKEL, E.P.; MOTIDOME, M. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 3, p. 693-97, 1991.

NOGUEIRA, R.T. **Estudo florístico no município de Pinheiral, Médio Vale Do Paraíba do Sul- RJ**. 2008. 33 f. Monografia. Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro, Instituto de Florestas. Seropédica, 2008.

OBERLIES, N. H.; BURGESS, J. P.; NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; FAIRCHILD, C. R.; PETERSON, R. W.; SOEJARTO, D. D.; FARNSWORTH, N. R.; DOUGLAS KINGHORN, A.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 95-99, 2002.

OFICINA DE ERVAS, Disponível em: < http://www.oficinadeervas.com.br/detalhe.php?id_produto=60&P=guaçatonga > 2010. Acesso em: 08/09/2010

PANICHI da VEIGA, M.; MARTINS, S. S.; SILVA, I. C.; TORMENA, C. A. ; DA SILVA, O. H. Avaliação dos aspectos florísticos de uma mata ciliar no Norte do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 25, n. 2, p.519-525, 2003.

PEREIRA, R. C. A.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CASTRO, E. M.; SILVA, F. G. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento *in vitro* de *Uncaria guianensis* (aublet) Gmelin Rubiaceae (unha-de-gato). **Ciência Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 637-642, 2006.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. 2, 1931. 408 p.

POSSOLO, H.; FERREIRA, C. Saponinas e outros compostos interessantes na família das Flacourtiaceae. **Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia**, v. 7, p. 377-385, 1949.

RAMALHO, M. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 1, p. 37-47, 2004.

RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; DUARTE, D. S.; BORGES, M. H.; DE LIMA, M. E. Anti-PLA2 action test of *Casearia sylvestris* Sw. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v. 141, n. 6, p. 457-60, 2002.

ROSSI, Z. T. T.; ALECRIM, E. F.; PEREIRA, G. C., ALMEIDA, H. S., MANSANARES, M. E. Anatomia ecológica da folha de *Casearia sylvestris* Sw. ocorrente em cerrado sensu stricto e floresta estacional semidecidual. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 9., 2009, São Lourenço. **Anais...** . São Lourenço: 2009. p. 1-3

RUPPELT, B. M., PEREIRA, E. F., GONÇALVES, L. C., PEREIRA, N. A. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom-I. Analgesic and anti-inflammatory activities. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 203–205, 1991.

SAI PRAKASH, C. V.; HOCH, J. M.; KINGSTON, D. G. I. Structure and stereochemistry of new cytotoxic clerodane diterpenoids from the bark of *Casearia lucida* from the Madagascar rainforest. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 100- 107, 2002.

SAINT-HILAIRE, A. *Casearia lingua*. **Flora brasiliae meridionalis**, v. 2, p. 236, 1829.

SANTOS, A. G., FERREIRA, P. M. P., VIEIRA JÚNIOR, G. M., PEREZ, C. C., TININIS, A. G., SILVA, G. H., BOLZANI, V. S., COSTA-LOTUFO, L. V., PESSOA, C. do Ó., CAVALHEIRO, A. J. Casearin X, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumor human cells. **Chemistry and Biodiversity**, v. 7, n. 1, p. 205-15, 2010.

SCHEFFER, M. C.; MING, L. C.; ARAUJO, A. J. Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. In: QUEIROZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos Genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro**. EMBRAPA: Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2002. Disponível em: <www.cpatsa.embrapa.br/catalogo/livrororg/medicinaisconservacao.pdf> Acesso em 10/03/2010.

SCAVONE, O.; GRECCHI, R.; PANNIZA, S.; SILVA, R. A. P. de S. Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz): aspectos botânicos da planta, ensaios bioquímicos e propriedades cicatrizantes da folha. **Anais Farmácia e Química**, v. 19, p. 73-81. 1979.

SERTIÈ, J. A. A.; CARVALHO, J. C. T.; PANIZZA, S. Antiulcer activity of the crude extract from leaves of *Casearia sylvestris*. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, p. 112-119. 2000.

SILVA, R. A. D. **Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. São Paulo: Edição Nacional, 1926. 456 p.

SILVA, F. A.; BAISCH, A. L. M.; OLIVEIRA, B.; BATTASTINI, A. M.; TORRES, F.; RACOSKI, G.; SILVA, E. S.; ALAM, M. F.; APOLINÁRIO, J. C. G.; LAPA, A. J. Estudos farmacológicos preliminares dos extratos da *Casearia sylvestris* Swartz. **Acta Amazônica**, v. 18, p. 219-229, 1988.

SILVA, G. A. A. B.; BAUER, L. Análise do óleo essencial de *Casearia sylvestris* Sw. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 6, p. 327-331, 1970.

SLEUMER, H. O. **Flora Neotropica Monograph: Flacourtiaceae**. New York: The New York Botanical Garden, n. 22, 1980. 499 p.

SOARES, E. R. C., PESTANA, D. D.; BARELLI, M. A. A.; GALBIATI C., DO AMARAL. A. M.; SILVA, E. R. G.; FAVARE, L. G.; BISLER, J. P.; PEREIRA R. P.; ANTENOR, F. L. Seleção de espécies melíferas com base na flora da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 726-728, 2007.

TORRES, R. B.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Casearia* Jacq. (Flacourtiaceae) do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 9, p. 239-258. 1986.

VASCONCELOS, L. E. M.; AGUIAR, O. T. A. Alimentação de *Alouatta fusca* Geof. (Primates, Cebidae). In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, Campos do Jordão, 1982. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1982. p. 1727-1730.

VIEIRA, R. F.; SILVA, S. R. **Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas: Resultados da 1ª reunião técnica**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), 2002. 184p.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 187-194, 2001.

CAPÍTULO I PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Casearia sylvestris* SWARTZ EM CINCO ÉPOCAS DE COLHEITA

RESUMO

Casearia sylvestris Swartz (Salicaceae) ou guaçatonga, é uma planta medicinal nativa da América Central e do Sul, cujas folhas são tradicionalmente utilizadas na forma de chá pela medicina popular para o tratamento de problemas gástricos em geral, assim como picadas de cobra e abelha e pela indústria farmacêutica no combate ao câncer e outras doenças. Devido à sua importância comercial e medicinal, e sendo a espécie obtida principalmente por extrativismo e indiscriminadamente, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da época de colheita na quantidade e composição do óleo essencial extraído de folhas frescas coletadas em Curitiba, PR. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições em cinco épocas de coleta (maio, junho, setembro e novembro de 2007 e janeiro de 2008). As extrações de óleo essencial foram realizadas por hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger durante 2 horas e 30 minutos, em 100 g de folhas frescas, a análise do óleo essencial foi realizada por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa. Os resultados obtidos demonstram que houve variação sazonal na produção de óleo essencial, sendo maio o mês que apresentou maior rendimento com 4,06 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS de óleo essencial. Foram determinados 26 compostos no óleo essencial de *C. sylvestris*, dentre os quais: germacreno D, biciclogermacreno, trans-cariofileno, germacreno B e β -elemeno apresentaram teores superiores em relação aos demais constituintes em todas as coletas.

Palavras-chave: Espécie medicinal. Sesquiterpenos. Guaçatonga.

3 CAPÍTULO I SEASONAL VARIATIONS IN YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF *Casearia sylvestris* SWARTZ ESSENTIAL OIL

ABSTRACT:

Casearia sylvestris (Salicaceae) is a native medicinal plant from Central and Southern America whose leaves are traditionally used in popular medicine as infusion for gastric problems treatments and as antivenin for snakebites and bee stings. Pharmaceutic uses include the application of leave extracts in anticancer drugs among others. Despite *C. sylvestris* commercial and medicinal relevance, its harvesting from the wild is uncontrolled, where the species is still indiscriminately collected. The aim of the present work was to evaluate the harvesting season influence on yield and essential oil chemical composition of *C. sylvestris* leaves collected in Curitiba, Paraná. The treatments were organized in a randomized block scheme design, with three replicates and 5 harvesting months (May, July, September and November 2007, January 2008). Samples of 100g of *C. sylvestris* fresh leaves were subjected to water-distillation for 2h 30m using a graduated Clevenger-type apparatus. The essential oil was analysed in chromatography in connected gaseous phase to the mass spectrometry (GC-MS). Essential oil yielded 4,06 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS reached with the leaves harvested in May. Analysis of the essential oils revealed the presence of 26 components represented mainly by germacrene D, bicyclogermacrene, trans-cariophyllene, germacrene B and β -elemene, which showed higher percentages in every harvesting month.

Key words: Medicinal species. Sesquiterpenes. Guaçatonga.

3.1 INTRODUÇÃO

Casearia sylvestris Swartz, ou guaçatonga, é uma árvore medicinal pertencente à família Salicaceae a qual ocorre em todos os Estados do Brasil, e na maioria dos ambientes florestais, sendo que no Paraná é presente especialmente na Floresta Ombrófila Mista (Floresta de Araucária, *Araucaria angustifolia*), na subformação Montana (Sleumer, 1980; Oliveira; Rotta, 1982; Lorenzi, 1992; Durigan et al., 2003; Marquete; Vaz, 2007).

As folhas de *C. sylvestris* são oblongas, elípticas ou ovado-oblongas, dísticas como as da bicuíba (*Virola bicuiba*), que lembram folhas compostas, semelhantes às do cedro (*Cedrela fissilis*), da canjarana (*Cabrlea canjerana* subsp. *canjerana*) e do cuvata (*Cupania vernalis*), motivo pelo qual pode ser confundida com essas árvores (Reitz et al., 1983). Quando as folhas são observadas contra a luz, notam-se pontuações translúcidas pequenas, as glândulas de óleo essencial, numerosas e distribuídas por toda a lâmina (Carvalho, 2007). As flores são pequenas e numerosas, de coloração esverdeada. Floresce nos meses de junho a agosto e seus frutos amadurecem a partir de setembro, prolongando-se até meados de novembro (Lorenzi, 1992).

Folhas, ramos e raízes de *C. sylvestris* são amplamente utilizados na medicina popular contra picadas de cobra e abelha, para afecções do estômago e pela sua ação cicatrizante (Lorenzi, 2002). Estudos farmacológicos testaram amplamente as propriedades antiúlcera (Basile et al., 1990), antitumorais (Almeida, 1999), genotóxicas (Maistro et al., 2004), antiofídicas (Borges et al., 2000) e antiinflamatórias (Almeida, 1999) da espécie.

C. sylvestris contém, entre seus componentes químicos secundários, cumarinas, flavonóides, triterpenos e diterpenos, especialmente clerodânicos (Itokawa et al., 1990; Morita et al., 1991; De Carvalho et al., 1998; Oberlies et al., 2002; Espindola et al., 2004). Tais metabólitos secundários são respostas a inúmeros fatores intrínsecos (ritmo circadiano, estágio de desenvolvimento, diferentes órgãos, genótipo e idade da planta) e extrínsecos (sazonalidade, temperatura, radiação ultravioleta, disponibilidade hídrica, nutrientes, poluição, respostas a ataques externos) que podem levar a variações no conteúdo de óleo e na porcentagem dos seus componentes (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

A coleta das plantas medicinais e aromáticas tem como objetivo uma produção de biomassa com maior teor de princípios ativos e compostos que conferem melhor aproveitamento nas indústrias fitoterápica e cosmética (Dabague, 2008). Assim, determinar a época ideal de coleta em função da produção de princípios ativos é fundamental no manejo de populações naturais de plantas aromáticas (Castellani et al., 2006a).

As folhas de *C. sylvestris* são obtidas por extrativismo e destinadas ao comércio local ou a revenda a indústrias farmacêuticas e de manipulação, de acordo com os poucos relatos existentes na literatura, sendo os coletores principalmente compostos por pessoas que colhem ramos e folhas indiscriminadamente segundo a disponibilidade e o consentimento, quando necessário, do proprietário do local (Silva *et al.*, 2004, Balzon *et al.*, 2008). Maior conhecimento sobre a produção e composição de óleo de *C. sylvestris* nas diferentes épocas do ano seria de grande ajuda para a instituição de um controle de qualidade e manejo mais sustentável da matéria prima.

O objetivo do trabalho foi avaliar a produção sazonal de óleo essencial e a sua composição em diferentes coletas nos meses de maio de 2007 a janeiro de 2008.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de *C. sylvestris* foram coletadas no período da manhã, nos meses de maio, julho, setembro e novembro de 2007 e janeiro de 2008 de 7 plantas matrizes nativas adultas que encontravam-se sem flores, localizadas às margens do Bosque do Campus II da Universidade Federal do Paraná (Jardim Botânico) em Curitiba, Paraná. As coordenadas geográficas do local de coleta são: latitude sul 25°26'50,29" e longitude oeste 49°14'18,35". O solo é caracterizado como Gleissolo Háptico (Embrapa, 2003), estando situado a aproximadamente a 900 m de altitude. O clima da região é o subtropical úmido mesotérmico (Cfb, segundo a classificação de Köppen), sem estação seca definida, com temperatura média nos meses mais quentes de 22 °C e 12 °C nos mais frios, valores médios anuais de precipitação de 1.450 mm e 81% de umidade (Iapar, 1994).

Para realizar as coletas foram observados pelo menos 3 dias sem chuvas. Em todas as épocas, o material vegetal foi retirado de árvores de altura entre 5 e 7 m, a partir dos ramos mais externos da copa e até 2 m do solo. Foram cortados ramos de todas as árvores selecionadas, em seguida foram retiradas e misturadas as folhas, eliminando as folhas com comprimento menor que 7 cm. Após a coleta, o material foi acondicionado em sacos plásticos e rapidamente transferido ao Laboratório de Ecofisiologia do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo no Campus I - Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, UFPR, onde o trabalho foi desenvolvido. Em seguida foram separadas 10 g do material para determinação do teor de umidade no momento da extração, pela secagem em estufa com circulação de ar forçada FANEM - Mod. 320SE, a 65 °C até obter massa constante, sendo o controle da secagem determinado pela massa túrgida das folhas amostradas. Não foram distinguidas as procedências das folhas sendo as matrizes consideradas como parte de uma mesma população homogênea.

As extrações de óleo essencial foram realizadas por meio de hidrodestilação durante 2 horas e 30 minutos, em aparelho graduado tipo Clevenger (Figura 1) (Wasicky, 1963), em balão de vidro com 2 L de capacidade, onde foram adicionados 1 L de água destilada e 100 g de folhas frescas de *C. sylvestris*, picadas com o auxílio de tesouras. Após a extração, o óleo essencial foi quantificado com auxílio de micropipeta de precisão (0-100 µL) sendo as amostras armazenadas em freezer a -20°C até o momento da análise.



Figura 1 - Aparelho Clevenger utilizado para a extração do óleo essencial de *C.sylvestris*

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo comparadas as produções de óleo essencial em 5 meses do ano, com três repetições. As médias foram testadas quanto à sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Os resultados obtidos submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas por regressão polinomial e pelo teste de Tukey a 5% ou 1% de probabilidade. Utilizou-se o programa Assistat versão 7.4 beta (Silva; Azevedo, 2009).

A análise dos constituintes químicos do óleo essencial foi realizada mediante cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) no Departamento de Engenharia Química da UFPR, no LACAUT ETS (Laboratório de Análise Química de Combustíveis Automotivos). O equipamento e as condições operacionais utilizadas para a quantificação dos constituintes do óleo essencial de *C. sylvestris* foram as seguintes: foi utilizado um cromatógrafo gasoso Varian, modelo CP 3800 com detector FID (CG_FID), com coluna capilar Chrompack de sílica fundida CP-SIL 8 CB de 0.25mm de diâmetro interno, 30 m de comprimento e 0,25 μm de filme líquido; a temperatura do injetor foi de 250 °C, split 1:100 e a quantidade de amostra injetada foi 1,0 μL ; o gás de arraste foi hélio 1mL/min; para o gás de make up utilizou-se ar sintético, nitrogênio e hidrogênio sendo a temperatura do detector FID de 300°C; a programação de temperatura do forno previu a temperatura inicial de 60°C, elevação de temperatura a 240°C na razão de 3°C permanecendo por 5 minutos; o tempo total da corrida foi de 65 minutos.

Para a quantificação dos constituintes do óleo essencial de *C. sylvestris* foram utilizados os seguintes equipamentos e a condições operacionais: cromatógrafo gasoso Varian, modelo CP 3800 com detector FID (CG_FID), com coluna capilar Chrompack de sílica fundida CP-SIL 8 CB com 0.25mm de diâmetro interno, 30 m de comprimento e 0,25 μm de filme

líquido; a temperatura do injetor foi de 250 °C, split 1:100; foi injetada 1,0 µL de amostra, utilizou-se 1mL/min constante de hélio como gás de arraste e ar sintético, nitrogênio e hidrogênio como gás de make up; a temperatura do detector FID foi 300°C; a temperatura inicial do forno foi de 60°C, sendo a elevação de temperatura 240°C na razão de 3°C permanecendo por 5 minutos. O tempo total da corrida foi de 65 minutos.

Os espectros de massa dos componentes do óleo foram comparados com espectros indexados na biblioteca NIST Mass Spectral Library e os componentes foram listados segundo o tempo de retenção.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Teor do óleo essencial

O teste de Tukey revelou que houve diferenças significativas entre as variáveis testadas para rendimento de óleo essencial de *C. sylvestris* (Figura 2).

Os teores de óleo essencial nas folhas frescas foram superiores quando coletadas no mês de maio (final do outono) com $4,06 \mu\text{L g}^{-1}$ massa seca de óleo (0,4%) (Figura 2). A seguir os melhores resultados foram obtidos em julho, janeiro, novembro e setembro ($2,38$, $2,25$, $1,77$ e $1,36 \mu\text{L g}^{-1} \text{MS}^{-1}$ respectivamente) seguindo o andamento ilustrado na Figura 2.

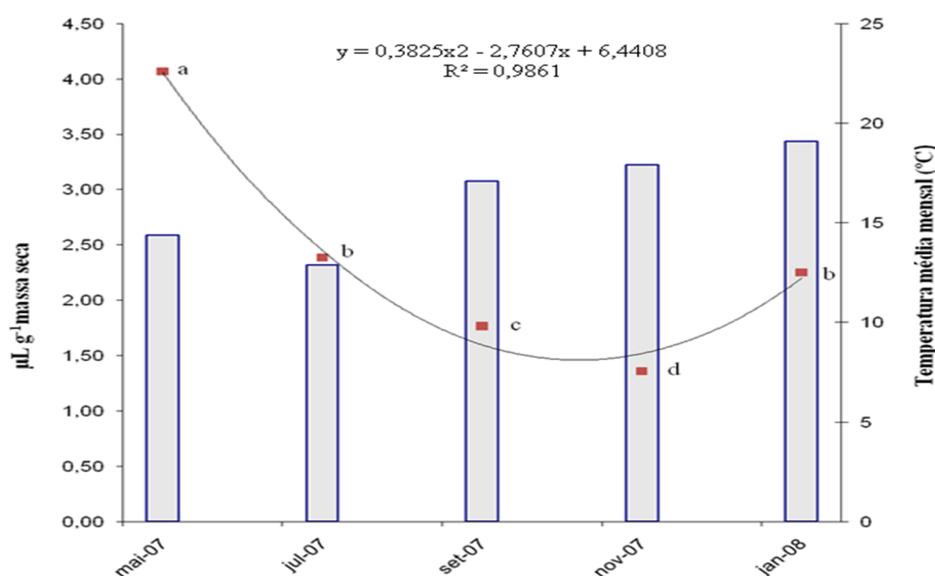


Figura 2 - Teor de óleo essencial ($\mu\text{L g}^{-1}$ massa seca) de folhas de *C. sylvestris* em função de cinco épocas de coleta e relativas temperaturas médias mensais ($^{\circ}\text{C}$). Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao 1% de probabilidade

Os resultados obtidos mostram que *C. sylvestris* apresenta variabilidade sazonal na produção de óleo essencial sendo a melhor época de coleta o final do outono. Tais resultados concordam Castellani *et al.* (2006a), os quais obtiveram maior teor de óleo essencial ($10 \mu\text{L g}^{-1}$ ou 1%) para folhas coletadas no outono em Viçosa (MG), sendo esta estação a recomendada para as coletas, com temperatura média de $22,28^{\circ}\text{C}$ e $2,16 \text{ mm}$ de pluviosidade média. Da mesma forma Becker (2008), obteve em folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em maio em Lajeado (RS), 1% de rendimento de óleo essencial, sendo a temperatura média da região em tal período 16°C e a pluviosidade média 137 mm .

Já para folhas de duas variedades de *C. sylvestris*, *lingua e sylvestris*, identificadas como pertencentes prevalentemente aos biomas “cerrado” e “mata” respectivamente, Silva *et al.* (2004) observaram um valor significativamente maior para o material proveniente de mata (0,36%) em relação ao de cerrado (0,2%) para folhas frescas coletadas em agosto em Botucatu, no Estado de São Paulo. Entretanto, folhas secas a temperatura ambiente e pulverizadas, coletadas na região da Cidade Universitária de São Paulo, chegaram a render até o 2,1% de óleo essencial, segundo Scavone *et al.* (1979), porém, os autores não especificaram a época de coleta das folhas analisadas.

Além da presença de quimiotipos e da interferência do ciclo vegetativo, fatores ambientais tais como, temperatura, irradiância, fotoperíodo, regime de ventos e micronutrientes presentes no solo, também são capazes de influenciar a composição química de óleos voláteis presentes nas plantas (Sangwan *et al.*, 2001).

Castellani *et al.* (2006a) observaram uma acentuada queda nos teores de óleo volátil de folhas de *Ocotea odorifera* coletadas no outono em relação à demais estações e sugerem que essa queda pode estar associada à radiação luminosa e a pluviosidade, já que nesse período os índices foram menores. Em *Baccharis trimera* o maior rendimento dos óleos voláteis foi obtido no período de menor temperatura e menor precipitação (Carreira 2007).

No entanto, no presente trabalho a precipitação média ocorrida no mês de maio de 2007 foi elevada (187 mm) sendo que a temperatura média foi de 19,9°C dados que discordam com Castellani *et al.* (2006a). Folhas frescas de espartilho (*Elyonorus muticus*), por outro lado tiveram maior rendimento de óleo volátil na primavera (Hess *et al.*, 2007); plantas frescas de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), e de *Ocotea nectandrifolia* apresentaram teores de óleo essencial mais elevados no inverno (Figueiredo *et al.*, 2006; Raggi, 2008). Já, a produção de óleo essencial das plantas medicinais catuaba (*Trilichia catigua*) e negramina (*Siparuna guianensis*), ocorrentes na Mata Atlântica secundária em Minas Gerais, não variou com a época de coleta (Castellani *et al.*, 2006b).

Com base nos dados bibliográficos é possível concluir que diferentes espécies respondem de forma diversificada às condições ambientais que lhes são impostas produzindo, conseqüentemente, diversas quantidades de óleos essenciais (Figura 2).

As plantas de *C. sylvestris* em maio encontravam-se na fase de repouso vegetativo fator que provavelmente induziu a maior produção de óleo essencial nos meses mais frios. Quando muito baixas as temperaturas diminuem o transporte no floema favorecendo o acúmulo de metabólitos secundários nas folhas, podendo também, por outro lado, provocar uma diminuição da atividade do metabolismo secundário. No estágio de floração ocorre o desvio

de fotoassimilados da fonte para dreno, sendo, portanto, os metabólitos primários e secundários preferencialmente encaminhados nas flores (Taiz; Zeiger, 2004). Já Blank *et al.* (2004) acharam que os teores de óleo essencial de sambacaitá (*Hyptis pectinata* L. Poit) variaram nos diversos estádios de desenvolvimento da planta, sendo a fase vegetativa a que apresentou um maior teor de óleo. Da mesma forma Lago *et al.* (2006), observaram em folhas de *Pittosporum undulatum*, que o rendimento do óleo essencial variou, nos diferentes estádios fenológicos da planta, no período reprodutivo (floração e frutificação) o rendimento foi maior que no período vegetativo.

Contudo a época de colheita das plantas medicinais não deve ser determinada visando só o conteúdo de óleo essencial em termos de quantidade, mas também a obtenção de um teor mínimo de princípios ativos, sem o qual o produto não tem valor para a produção de fitoterápicos. Neste sentido Sellami *et al.* (2009) relataram que não obstante o teor de óleo essencial fosse maior em folhas frescas colhidas em plena floração, a fase vegetativa foi considerada a melhor para a coleta de folhas de majorana (*Origanum majorana* L.) sendo a que apresentou maior conteúdo de compostos bioativos.

3.3.2 Composição do óleo essencial

Na análise cromatográfica das amostras de óleo essencial de folhas colhidas em diferentes meses do ano, foram identificados 26 constituintes representando de 77,83 a 87,32% do conteúdo total dos óleos voláteis, entre eles o δ -elemeno, β -elemeno, α -gurjuneno, trans-cariofileno, β -gurjuneno, α -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, germacreno A, δ -cadineno, germacreno B, espatulenol, óxido de cariofileno (Tabela 1) (Figura 3).

Tais constituintes já haviam sido relatados em trabalhos avaliando a composição do óleo essencial de *C. sylvestris*, porém com teores diferentes (Silva *et al.*, 2004; Esteves *et al.*, 2005; Tininis *et al.*, 2006).

A partir da análise de variância, foi observada variação da porcentagem dos constituintes conforme a cada época de coleta (Tabela 1). Os constituintes cujo teor foi mais elevado foram germacreno D (31,83% em maio), seguido do biciclogermacreno (26,77% em julho), trans-cariofileno (13,64% em setembro), germacreno B (8,21% em maio) e β -elemeno (6,11% em janeiro). Esteves *et al.* (2006), encontraram como constituintes majoritários: biciclogermacreno (40,9%), β -acoradieno (20,8%), cariofileno (13,8%) e espatulenol (12,6%), α -humuleno (3,7%). A maior parte dos componentes identificados pertence à família dos

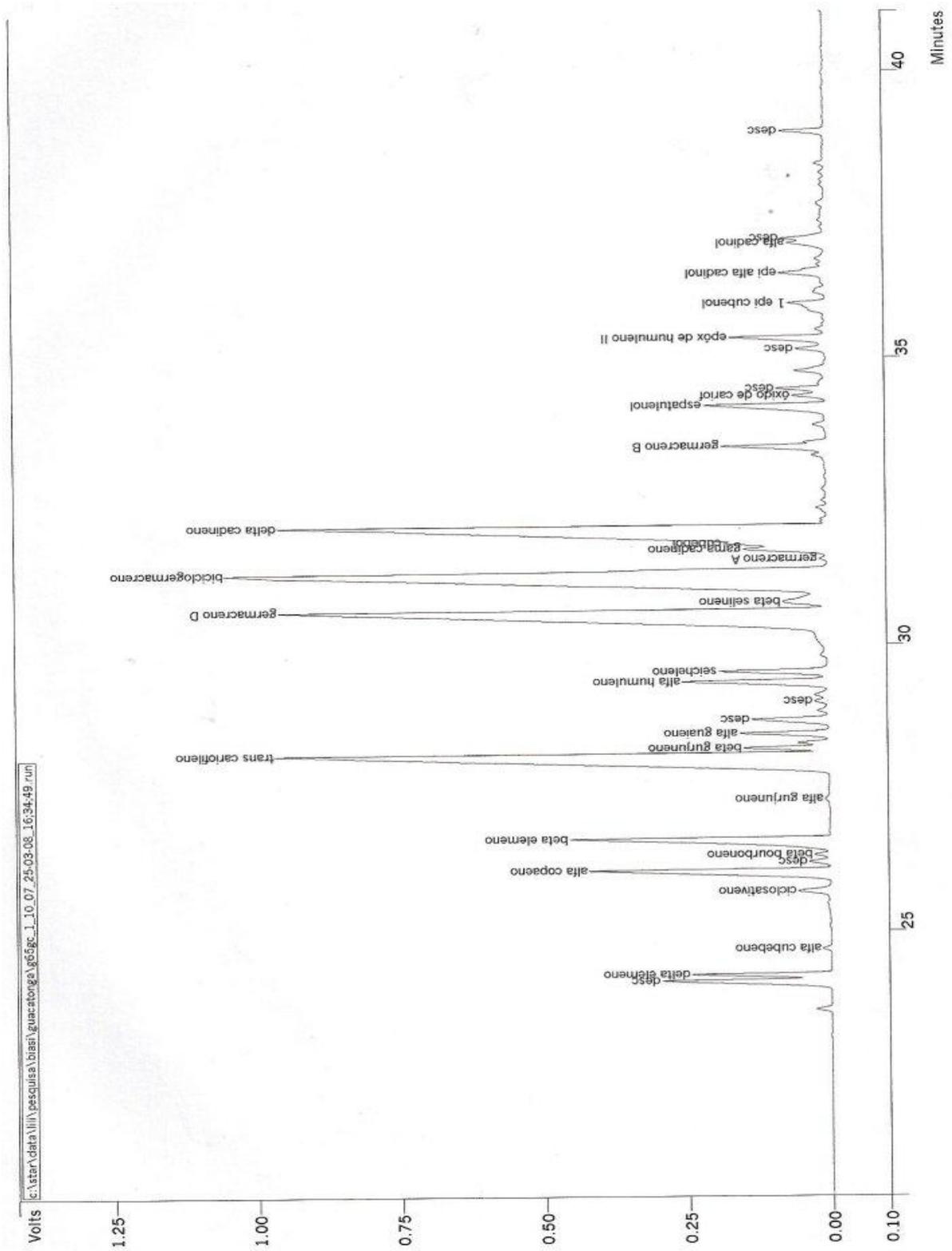


Figura 3 - Cromatograma da fração volátil do óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris*

sesquiterpenes, como o biciclogermacreno e o germacrenos A, B e D, o β e δ -elemeno, transcariofileno, o α -humuleno, o α -cubebeno, o cadineno.

A época em que uma droga é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano sendo que as baixas temperaturas têm influências significativas nos níveis de metabólitos secundários (Gobbo Neto; Lopes, 2007). Sellami *et al.* (2009) afirmam também que o rendimento de óleo essencial de cada espécie é influenciado por parâmetros intrínsecos (como crescimento e fases de desenvolvimento) e extrínsecos (como as condições edafoclimáticas e os métodos de extração do óleo).

As diferentes porcentagens de metabólitos ao longo do ano provavelmente também dependeram das fases fenológicas das plantas, sendo que na fase de floração os constituintes majoritários foram influenciados pelos agentes polinizadores, no caso de *C. sylvestris* principalmente por abelhas do gênero *Melipona* e dípteros sirfídeos, e na fase vegetativa por patógenos e herbívoros (Carvalho, 2007).

Assim, as folhas coletadas nos meses de floração e frutificação (novembro e janeiro) apresentaram maiores teores de α -gurjuneno (4,54%), α -cubebeno (2,20%), γ -cadineno (3,27%), cubebol (2,84%), óxido de cariofileno (1,43%) e epi- α -cadinol (3,51%) entre outros (Tabela 2). Tais compostos são comuns no óleo essencial de espécies arbóreas melíferas como o cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less) Cabr) (Stefanello *et al.*, 2006) ou em óleo essencial de própolis (Sousa *et al.*, 2006), indicando a natureza atrativa de insetos polinizadores do óleo essencial de *C. sylvestris* em tais meses do ano assim como o forte aroma de mel das características das suas inflorescências (Carvalho, 2007).

Nos meses em que *C. sylvestris* encontrava-se em fase vegetativa, os componentes que apresentaram maior teor com respeito aos restantes meses de coleta das folhas foram: δ -elemeno (2,6%), trans-cariofileno (13,64%), germacreno D (31,83%), germacreno B (8,21%), germacreno A (4,31%), δ -cadineno (15,45%), 1epicubenol (3,78%), β -gurjuneno (3,11%) (Tabela 2). Tais compostos tem sido documentados como inseticidas, dissuasores do ataque de insetos herbívoros e inibidores de crescimento de bactérias (Moraes *et al.*, 2002, Kiran *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2009).

Tabela 1 - Composição do óleo essencial (%) de *C. sylvestris* em função dos meses de coleta das folhas.

Composto	Maio/07	Julho/07	Setembro/07	Novembro/07	Janeiro/07
δ -elemeno	2,6 a	0,90 b	1,09 b	2,05 ab	1,33 b
α -cubebeno	0,05 c	0,02 c	0,07 c	1,34 b	2,20 a
ciclosativeno	0,14 b	0,25 ab	0,39 a	0,2 ab	0,23 b
α -copaeno	0,19 d	0,80 cd	3,62 a	1,72 bc	3,08 ab
β -bourboneno	0,07 a	0,11 a	0,10 a	0,03 a	0,11 a
β -elemeno	4,99 a	3,90 ab	4,23 ab	2,27 b	6,11 a
α -gurjuneno	0,01 b	0,39 b	0,06 b	0,10 b	4,54 a
trans-cariofileno	3,79 b	7,19 b	13,64 a	7,05 b	6,30 b
β -gurjuneno	3,11 a	1,28 b	0,73 b	1,78 b	0,89 b
α -guaiano	0,63 ab	0,83 a	0,99 a	0,07 b	0,94 a
α -humuleno	0,50 c	1,14 b	1,79 a	1,23 b	1,01 b
seicheleno	0,36 b	1,42 a	1,39 a	1,18 a	1,41 a
germacreno D	31,83 a	12,99 b	15,17 b	18,59 b	16,67 b
β -selineno	0,62 a	1,06 a	0,71 a	1,76 a	1,31 a
biciclogermacreno	2,71 b	26,77 a	17,06 ab	16,80 ab	15,26 ab
germacreno A	3,34 b	4,31 a	0,04 c	0,24 c	0,25 c
γ -cadineno	0,54 c	0,46 c	1,26 b	3,27 a	1,76 b
cubebol	0,41 c	0,66 bc	0,99 bc	2,84 a	1,27 b
δ -cadineno	1,63 d	5,58 c	15,45 a	7,33 c	11,41 b
germacreno B	8,21 a	1,54 b	1,29 b	2,48 b	1,73 b
espatulenol	0,92 a	2,05 a	2,25 a	1,85 a	1,69 a
óxido de cariofileno	0,53 b	0,62 b	0,66 b	0,20 b	1,43 a
epóxido II humuleno	0,18 b	0,80 ab	1,30 ab	1,19 ab	1,33 a
lepucubanol	3,78 a	1,85 b	0,81 b	0,81 b	1,41 b
epi- α -cadinol	2,92 b	0,59 c	0,80 c	3,51 a	3,02 b
α -cadinol	4,23 a	0,94 c	0,56 c	4,71 a	2,35 b
Total	79,16	77,83	86,43	84,53	87,32

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 1% de probabilidade

Becker (2008), para folhas de *C. sylvestris* coletadas em maio em Lajeado (RS), obteve um rendimento de 1% e foram separados 20 compostos, dos quais quatro não foram identificados. Nesta planta, os compostos encontrados em maior quantidade foram β -elemeno (31,70%) e α -humuleno (28,20%), sendo que os outros compostos obtiveram porcentagem inferior a 10% na composição.

Já Tininis *et al.* (2006) acharam que folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas no verão, trituradas em nitrogênio líquido e submetidas à extração por passagem de vapor, apresentavam teores diferentes na composição do óleo essencial segundo o horário de coleta das folhas. Pela manhã, os constituintes principais foram o germacreno D (79,2%), germacreno B (14,8%), β -selineno (4,2%), no período da tarde, germacreno D (66,2%), germacreno B (13,7%), β -selineno (5,2%). Os autores hipotizaram que a dinâmica metabólica é influenciada pelo fotoperíodo (dia e noite), inferindo a essa variação os rearranjos dos

sesquiterpenos presentes no óleo (Figura 3). Assim, no presente trabalho tais rearranjos metabólicos poderiam justificar as diferenças nas concentrações de biciclogermacreno/germacreno A, B e D entre as folhas dos meses de maio e junho e a dos restante dos meses amostrados, sendo a intensidade luminosa e a temperatura menores no outono e inverno. Além disso as variações na porcentagem de componentes do óleo poderiam talvez indicar a presença de quimiotipos ainda não identificados ou descritos.

As análises realizadas no presente trabalho não evidenciaram especificamente nenhuma casearina, diterpene clerodânico dentre os maiores responsáveis, segundo a bibliografia, da atividade citotóxica e anticancerígena do óleo essencial das folhas de *C. sylvestris* talvez pelo método de extração utilizado, hidrodestilação extrato hidroalcoólico (Itokawa *et al.*, 1988; Santos *et al.*, 2007).

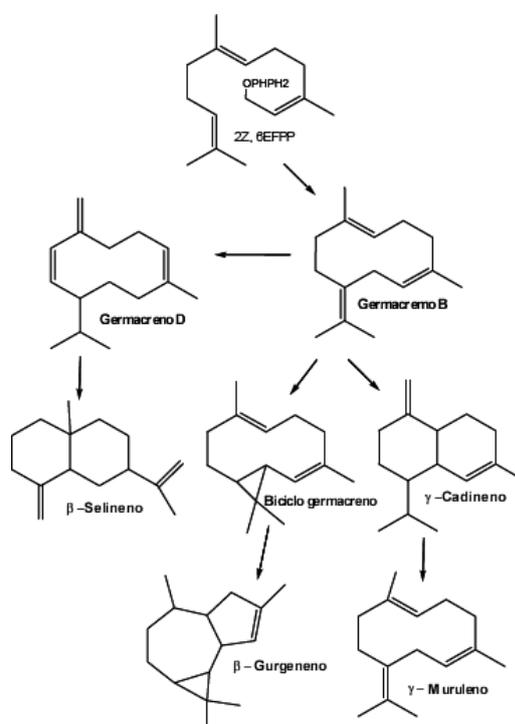


Figura 4 - Rota biossintética de sesquiterpenos monocíclicos e possíveis rearranjos na cadeia carbônica (de Tininis *et al.*, 2006).

Dada a predominância de terpenos e diterpenos nos óleos analisados, é possível que alguns sejam o resultado de rearranjos dos compostos resultantes da degradação de casearinas, por elas serem instáveis, oxidando em ambiente ácido ou em presença de oxigênio, perdendo a cadeia carbônica lateral e formando dialdeídos (Santos *et al.*, 2010), como exemplificado na Figura 4.

Em relação aos tipos de componentes identificados, Xie *et al.* (2009) recentemente comprovaram que, em óleos essenciais, o δ -elemeno, que com os isômeros β e γ -elemeno forma o elemeno, é um potente composto citotóxico responsável pela apoptose (morte celular

programada, segundo definição dos mesmos autores) de células humanas de adenocarcinoma colorectal. A presença de β e δ -elemeno no óleo essencial de *C. sylvestris* pode estar em relação às propriedades anticancerígenas descritas para a espécie. Os compostos do sesquiterpene cariofileno (trans-cariofileno, óxido de cariofileno e α -humuleno também chamado de α -cariofileno) achados no presente trabalho, são definidos na bibliografia como anti-inflamatórios, óleos ricos na mistura cariofileno/biciclogermacreno ou cariofileno/germacreno D, também têm demonstrado potente atividade antimicrobiana (Martin *et al.*, 1993; Formisano *et al.*, 2006). Esteves *et al.* (2009), comprovaram que óleo essencial de *C. sylvestris*, cujos compostos majoritários foram o cariofileno, α -humuleno, germacreno-D, biciclogermacreno, calameneno, germacreno B, espatulenol e globulol, apresentou o 36 % de redução de edema induzido e o 90% de inibição de úlcera gástrica induzida em ratos, portanto, os autores sugeriram tais compostos como os responsáveis pelas atividades anti-inflamatória e anti-úlcera.

Com base nesse trabalho e no descrito na bibliografia, portanto, observa-se que o período do ano relativo à maior quantidade de princípios ativos de interesse coincide com o final de outono até começo da primavera, sendo o final da primavera e o verão as épocas com menor produção e conteúdo de metabólitos de interesse.

3.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, é possível concluir que:

Houve variação na composição do óleo essencial de *C. sylvestris* em função da época de coleta das folhas.

Os constituintes germacreno D, biciclogermacreno, trans-cariofileno, germacreno B e β -elemeno apresentaram teores superiores em relação aos demais constituintes em todas as coletas.

O período para a coleta de folhas de *C. sylvestris* muda conforme a composição do óleo essencial e a presença de metabólitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. **Atividade antiinflamatória e antitumoral do extrato hidroalcolico de *Casearia sylvestris*: estudo comparativo com os antiinflamatórios piroxicam e meloxicam.** 1999. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1999.
- BASILE, A.C; SERTIE, J. A. A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C.A. pharmacological assey of *Casearia sylvestris*. I. Preventive antiulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, n. 2, p. 185-197, 1990.
- BALZON, D. R.; ANADALVO SANTOS, A. J.; CORRÊA JÚNIOR, C.; BITTENCOURT, A. M.; ALMEIDA, A. N. Cadeia produtiva do chá-de-bugre (*Casearia sylvestris*) na região metropolitana de Curitiba - Paraná. **Floresta**, v. 38, n. 4, p. 617-624, 2008.
- BECKER, C. **Avaliação da atividade acaricida de óleos essenciais de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., em *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae).** 2008. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento) - Centro Universitário Univates. Lajeado, 2008.
- BLANK, A. M. F.; CAMPOS, D. A.; BLANK, A. F.; ANTONIOLLI, A. R.; CAETANO, L. C.; AZEVEDO, V. G.; SILVA-MAN, R. Influência do estágio de desenvolvimento no teor e na atividade analgésica do óleo essencial de sambacaita (*Hyptis pectinata* L. Poit). In: CONGRESSO DE OLERICULTURA, 44., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABH, 2004. p. 60-64.
- BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIÉRREZ, J. M.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 127, p. 21-30, 2000.
- CARREIRA, R.C. ***Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae): estudo comparativo dos óleos voláteis, atividade biológica e crescimento de estacas de populações ocorrentes em áreas de Cerrado e Mata Atlântica.** 2007. 191 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica. São Paulo. 2007.
- CARVALHO, P. E. R. **Cafezeiro-do-Mato - *Casearia sylvestris*.** Colombo: EMBRAPA-CNPF, Circular Técnica, n. 138, 2007. 16 p.
- CASTELLANI, D. C.; CASALI, V. W. D.; SOUZA, A. L.; CECON, P. R.; CARDOSO, C. A.; MARQUES, V. B. Produção de óleo essencial em canela (*Ocotea odorifera* Vell.) e guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz) em função da época de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n. 8, p. 104-107, 2006a.
- CASTELLANI, D. C.; CASALI, V. W. D.; SOUZA, A. L.; CECON, P. R.; CARDOSO, C. A.; MARQUES, V. B. Produção de óleo essencial de catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss) e negramina (*Siparuna guianensis* Aubl.) em função da época de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n. 8, p. 62-65, 2006b.

COSTA, J. G. M. Da; SOUSA, E. O. De; RODRIGUES, F. F. G.; LIMA, S.Y G. De; BRAZ-FILHO, R. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p.710-714, 2009.

DABAGUE, I. C. M. **Rendimento e composição do óleo essencial de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) sob diferentes épocas de colheita e períodos de secagem.** 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná. 2008.

De CARVALHO, P. R. F., FURLAN, M., YOUNG, M.C.M., KINGSTON, D.G.I., BOLZANI, V.S., Acetylated DNA-damaging clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. **Phytochemistry**, n. 49. p. 1659-1662, 1998.

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A. The vegetation of priority areas for cerrado conservation in São Paulo State, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 217-241, 2003.

EMBRAPA. Mapa da Série Brasil Geográfico, escala 1:5.000.000, IBGE, 2002; editada em 2003.

ESPINDOLA, L. S.; VASCONCELOS JUNIOR, J .R.; DE MESQUITA, M. L.; MARQUIE, P., DE PAULA, J. E.; MAMBU, L.; SANTANA, J. M. Trypanocidal activity of a new diterpene from *Casearia sylvestris* var. *lingua*. **Planta Medica**, n.70. p.1093-1095, 2004.

ESTEVES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G; SANTOS, L. S.; SERTIE, J. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 191–196, 2005.

FORMISANO, C.; SENATORE, F.; BRUNO, M.; BELLONE, G.; Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Phlomis ferruginea* Ten. (Lamiaceae) growing wild in Southern Italy. **Flavour and Fragrance Journal.**, n. 21, p. 848-851, 2006.

FIGUEIREDO, R. O.; DELACHIAVE, M. E. A.; MING, L. C. Reguladores vegetais na produção de biomassa e teor de óleos essenciais em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, em diferentes épocas do ano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n. 8, p. 31-35, 2006.

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

HESS, S.C.; PERES, M.T.L.P.; BATISTA, A.L.; RODRIGUES, J.P.; TIVIROLI, S.C.; OLIVEIRA, L.G.L.; SANTOS, C.W.C., FEDEL, L.E.S.; CRISPIM, S.M.A.; SMANIA JÚNIOR, S., SMANIA, E.F.A., FLACH, A.;PANTAROTO, S. Evaluation of seasonal changes in chemical composition and antibacterial activity of *Elyonurus muticus* (Sprengel) O. Kuntze (Graminae). **Química Nova**, n. 30, p. 370-373, 2007.

IAPAR. **Cartas climáticas do Estado do Paraná.** doc.18. Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina. 1994.

ITOKAWA, H., TOTSUKA, N.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; IITAKA, Y.; SCHENKEL, E.P.; MOTIDOME, M. New antitumor principles, casearins A-F, for *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae) **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 3384-3388, 1990.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; TAKEYA, K.; WATANABE, K.; OBATA, E. Antitumor principles from *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), structure elucidation of new clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 4, p. 1585-88, 1988.

KIRAN, S. R.; DEVI, P. S.; REDDY, K. J. Bioactivity of essential oils and sesquiterpenes of *Chloroxylon swietenia* DC against *Helicoverpa armigera*. **Current Science**, n. 4, v. 93, 2007.

LAGO, J. H. G.; FÁVERO, O. A.; ROMOFF P. Microclimatic factors and phenology influences in the chemical composition of the essential oils from *Pittosporum undulatum* Vent Leaves. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 17, p. 1334-1338, 2006.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992. p.115.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 131

MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J. C. T.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and v 79 cells by the comet assay. **Toxicology in vitro**, v. 18, p. 337-342, 2004.

MARQUETE, R.; VAZ, A. M. S. F. da. O gênero *Casearia* no estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, n. 58, v. 4, p.705-738, 2007.

MARTIN, S.; OCETE, M. A.; GALVEZ, J.; JIMÉNEZ, J.; ZARZUELO, A. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Bupleurum fruticosens*. **Planta Medica**, v. 59, p. 533-536, 1993.

MORAES, L.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, O. M. M.; MING, L. C.; MEIRELES, M. A. A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, p. 183-186, 2002.

MORITA, H.; NAKAYAMA, M.; KOJIMA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H.; SCHENKEL, E.P.; MOTIDOME, M. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 3, p. 693-97, 1991.

OBERLIES, N. H.; BURGESS, J. P.; NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; FAIRCHILD, C. R.; PETERSON, R. W.; SOEJARTO, D. D.; FARNSWORTH, N. R.; DOUGLAS KINGHORN, A.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 95-99, 2002.

OLIVEIRA, Y. M. M. de.; ROTTA, E. Levantamento da estrutura vertical de uma mata de araucária do primeiro planalto paranaense. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4. 1982, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA, 1982. p. 27-41

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. **Sellowia**, n. 34-35, p. 1-525, 1983.

RAGGI, L. Estudo da composição química e das atividades biológicas de óleos voláteis de espécies de Lauraceae, em diferentes épocas do ano. 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Botânica, São Paulo, 2008.

SANGWAN N. S; FAROOQI A. H. A; SHABIH F., SANGWAN R. S. Regulation of essential oil production in plants, **Plant Growth Regulation**, n. 34, p.3-21, 2001.

SANTOS, A. G.; PEREZ, C. C.; TININIS, A. G.; BOLZANI, V. Da S.; CAVALHEIRO A. J. Clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Swartz. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p.1100-1103, 2007.

SANTOS, A. G.; FERREIRA P.M.P.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; CARLA CRISTINA PEREZ, C. C.; TININIS, A. G.; SILVA, G. H.; BOLZANI, V. Da S.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C. d'O.; CAVALHEIRO A. J. Casearin x, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumor human cells. **Chemistry and Biodiversity**, v. 7, p. 205-215, 2010.

SCAVONE, O.; GRECCHI, R.; PANNIZA, S.; SILVA, R.A.P. de S. Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz): aspectos botânicos da planta, ensaios fitoquímicos e propriedades cicatrizantes da folha. **Anais de Farmácia e Química de São Paulo**, v. 19, n. 1, p. 73-81. 1979.

SELLAMI I. H.; MAAMOURI E.; CHAHED T.; WANNES W. A.; KCHOUK M. E.; MARZOUK B. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.), **Industrial Crops and Products**, n. 30, p. 395-402, 2009.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009. Reno. **Proceedings...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. p. 393-394.

SILVA, M. A. S ; MING, L. C. ; MARQUES, M. O. M. Composição e teor do óleo essencial de duas variedades de guaçatonga do cerrado e mata. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 44., 2004, **Anais...** Campo Grande: Horticultura Brasileira, 2004. p. 260-264.

SOUSA, S. A. A.; CITO, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D. Constituintes do óleo essencial a própolis produzida na cidade de Pio IX – Piauí. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8. n. 4, p.1-3, 2006.

SLEUMER, H. O. **Flora Neotropica Monograph**: Flacourtiaceae. New York: The New York Botanical Garden, n. 22, 1980. 499 p.

STEFANELLO, M. É. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI JUNIOR, A.; SIMIONATTO, E. L. Óleo essencial de *Gochnatia polymorpha* (Less) Cabr. ssp floccosa Cabr. **Química Nova**, v. 29, n. 5, 2006 .

TININIS, A. G.; ASSONUMA, M. M.; TELASCREA, M.; PEREZ, C. C.; SILVA, M. R. S. R. M.; FAVORETO, R.; CAVALHEIRO, A. J. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Casearia sylvestris* SW. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 132-136, 2006.

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de clewenger para extração de óleos essenciais. **Revista Faculdade de Farmácia e Bioquímica**, v. 1, n. 1, p. 77-81, 1963.

XIE, C. Y.; YANG, W.; LI, M.; YING, J.; TAO, S. J.; LI, K.; DONG, J. H.; WANG, X. S. Cell apoptosis induced by δ -elemene in colorectal adenocarcinoma cells via mitochondrial-mediated pathway. **The Pharmaceutical Society of Japan**, n. 11, v. 129, p.1403-1413, 2009.

4 CAPÍTULO II RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Casearia sylvestris* Swartz APÓS DIFERENTES TRATAMENTOS DE SECAGEM

RESUMO

A *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae) ou guaçatonga, é uma planta medicinal nativa da América Central e do Sul. O óleo essencial desta espécie apresenta propriedades anti-sépticas, antimicrobianas, antiúlcera e anti-inflamatórias entre outras. A utilização de técnicas adequadas para cada espécie que visem a maximização da produção do óleo associada à obtenção do maior teor de metabólitos secundários de interesse é de fundamental importância. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de três tipos de secagem no teor e composição do óleo essencial extraído de folhas de *C. sylvestris* coletadas em Curitiba, PR. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (folhas frescas, como controle, 40 °C, 60 °C e ar ambiente) e três repetições. As extrações de óleo essencial foram realizadas por hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger durante 2 horas e 30 minutos e a análise do óleo essencial foi realizada por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa. Os resultados obtidos demonstram que houve variação na produção de óleo essencial após os tratamentos de secagem, sendo as secagens em estufa a 40 °C e 60 °C os tratamentos que proporcionaram maior quantidade de óleo essencial com 8,79 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS e 10,22 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS de óleo essencial respectivamente. Foram determinados 32 compostos no óleo essencial de *C. sylvestris* dentre os quais o biciclogermacreno foi mais abundante em folhas secas a 40 e 60 °C e o δ -cadineno apresentou maior concentração em todos os tratamentos de secagem das folhas. Os constituintes α -cubebeno, trans-cariofileno, α -copaeno, cubebol, β -elemeno, guaiol, bulnesol, 1-epicubenol e seicheleno apresentaram teores superiores em folhas frescas. Tumbergol e espatulenol, γ -muuroleno e óxido de cariofileno apresentaram teores superiores em folhas secas ao ar ambiente.

Palavras-chave: Guaçatonga. Espécie medicinal. Biciclogermacreno. δ -cadineno.

ABSTRACT: YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF *Casearia sylvestris* Swartz ESSENTIAL OIL AFTER DIFFERENT DRYING METHODS

Casearia sylvestris (Salicaceae) is a native medicinal plant from Central and Southern America whose leaves are traditionally used in popular medicine as infusion for gastric problems treatments and as antivenin for snakebites and bee stings. The use of adequate techniques to maximize the essential oil production along with the obtention of advantageous secondary metabolites from medicinal species is highly important. The aim of the present work was to evaluate the drying temperature influence on yield and essential oil chemical composition of *C. sylvestris* leaves collected in Curitiba, Paraná. The treatments were organized in a randomized block scheme design with three replicates with fresh leaves as a test and 3 drying conditions, room temperature, 40 °C and 60 °C in a forced ventilation drier. Samples of *C. Sylvestris* leaves were subjected to water-distillation for 2h 30m using a graduated Clevenger-type apparatus. The essential oil was analysed in chromatography in connected gaseous phase to the mass spectrometry (GC-MS). Essential oil yield varied according to the drying conditions, leaves dried at 40 °C and 60 °C yielded the most with 8,79 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS and 10,22 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS respectively. Analysis of the essential oils revealed the presence of 32 components represented mainly by bicyclogermacrene in leaves dried at 40 and 60 °C and δ -cadinene in all drying treatments. Fresh leaves were richer in α -cubebene, trans-cariophyllene, α -copaene, cubebol, β -elemene, guaiol, bulnesol, 1-epicunol. Thunbergol, spatulenol showed higher percentages in room temperature dried leaves.

Key words: Guaçatonga. Medicinal species. Bicyclogermacrene. δ -cadinene.

4.1 INTRODUÇÃO

Casearia sylvestris Sw. (Salicaceae) ou guaçatonga, é uma árvore medicinal presente em todos os Estados do Brasil, e na maioria dos ambientes florestais, sendo que no Paraná ocorre especialmente na Floresta Ombrófila Mista (Floresta de Araucária, *Araucaria angustifolia*), na subformação Montana (Sleumer, 1980; Oliveira; Rotta, 1982; Lorenzi, 1992; Durigan et al., 2003; Marquete; Vaz, 2007).

As folhas da *C. sylvestris* são oblongas, elípticas ou ovado-oblongas, dísticas, e perenes, quando observadas contra a luz, podem ser distinguidas pequenas pontuações translúcidas, as glândulas de óleo essencial, numerosas e distribuídas por toda a lâmina foliar (Lorenzi, 1992; Carvalho, 2007). As flores são pequenas e numerosas, de coloração esverdeada, florescendo nos meses de junho a agosto; os frutos amadurecem a partir de setembro, prolongando-se até meados de novembro ou dezembro, segundo a localização geográfica (Lorenzi, 1992).

Extratos aquosos e alcoólicos de folhas e ramos de *C. sylvestris* são amplamente utilizados na medicina popular contra picadas de cobra e abelha, para afecções do estômago e como cicatrizante (Lorenzi, 2002). A bibliografia cita *C. sylvestris* como planta com teores de 0,3 e 2,5% de óleo essencial (Silva et al. 2004; Esteves et al., 2005). A presença de óleo essencial nesta espécie é responsável pela atividade anti-séptica e antimicrobiana (Barbosa et al, 1994), antiúlcera e antiinflamatória (Sertié et al., 2000; Esteves et al., 2005), citotóxica e clastogénica para células tumorais humanas (Silva et al., 2008; dos Santos et al., 2010) e antifídica (Borges et al., 2000).

O óleo essencial de *Casearia sylvestris* contém, entre seus componentes químicos, cumarinas, flavonóides, triterpenos e diterpenos, especialmente clerodânicos (Itokawa et al., 1990; Morita et al., 1991; De Carvalho et al., 1998; Oberlies et al., 2002; Espindola et al., 2004). Tais componentes encontram-se provavelmente armazenados em ductos e cavidades dispersos pela lâmina foliar e pecíolo, e por idioblastos presentes nos tecidos vasculares, parênquima cortical da nervura mediana e no parênquima paliçádico, tal como foi determinado por Thadeo et al. (2009) para *Casearia decandra*, planta do mesmo gênero e muito próxima a *C. sylvestris*. Para a extração do óleo essencial é de fundamental importância a utilização de técnicas adequadas para cada espécie que visem a maximização da produção do óleo associado à obtenção do maior teor de metabólitos secundários de interesse (Santos; Innecco, 2005; Sellami et al., 2009).

A umidade residual acima de 10 % nas drogas vegetais favorece o desenvolvimento de fungos e bactérias, bem como possibilita a atividade hidrolítica de diversas enzimas presentes

nas células vegetais, levando à degradação dos princípios ativos (Simões; Spitzer 1999). As enzimas responsáveis pela variação da composição podem ser oxidases (causam a oxidação de compostos fenólicos ou ácidos graxos insaturados), peroxidases (causam a oxidação de terpenos e terpinenos), hidrolases (rompem ligações ésteres e glicosídicas) e isomerases (isomerizam certas classes de alcalóides e compostos opticamente ativos) (Fennel *et al.*, 2004). A secagem de plantas medicinais tem por objetivo retirar o alto teor de água presente em células e tecidos frescos, permitindo a manutenção da qualidade do material vegetal por um período de tempo maior (Santos; Innecco, 2005). Contudo, Pimentel *et al.* (2008) sugerem que, às vezes, a utilização de material fresco torna-se indispensável para a produção e detecção de alguns componentes específicos do óleo, tendo a vantagem de evitar a presença de substâncias oriundas do metabolismo de degradação vegetal.

No processo de secagem, os métodos comumente utilizados são três: diretamente ao sol, em galpões cobertos sem controle do ar ambiente e em secadores com ar forçado aquecido (Martinazzo, 2006). O processo de secagem em temperatura ambiente é recomendado para regiões que tenham condições climáticas favoráveis, relacionadas principalmente à alta ventilação e temperatura, com baixa umidade relativa (Dabague, 2008). Durante a secagem, a velocidade com que a água é retirada do produto é muito importante, pois a remoção muito rápida pode degradar os princípios ativos. Por outro lado, não deve ser muito lenta, pois, favorece o aparecimento de microrganismos indesejáveis (Silva; Casali, 2000).

Não foram encontrados na bibliografia trabalhos específicos sobre a produção e composição de óleo de *C. sylvestris* em relação à temperatura do ar de secagem. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o rendimento e a composição do óleo essencial de *C. sylvestris*, submetido à secagem em temperatura ambiente e aquecido a 40 e 60 °C, comparando-os com a planta fresca.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de *C. sylvestris* foram coletadas no mês de junho de 2009 de 7 plantas matrizes nativas adultas, localizadas às margens do Bosque do Campus II da Universidade Federal do Paraná (Jardim Botânico) em Curitiba, Paraná. As coordenadas geográficas do local de coleta são: latitude sul 25°26'50,29" e longitude oeste 49°14'18,35". O solo é caracterizado como Gleissolo Háptico (Embrapa, 2003), estando situado a aproximadamente a 900 m de altitude. O clima da região é o subtropical úmido mesotérmico (Cfb, segundo a classificação de Köppen), sem estação seca definida, com temperatura média nos meses mais quentes de 22 °C e 12 °C nos mais frios, valores médios anuais de precipitação de 1.450 mm e 81% de umidade (Iapar 1994).

O material vegetal foi retirado de árvores de altura entre 5 e 7 m, a partir dos ramos mais externos da copa e até 2 m do solo. Foram cortados ramos de todas as árvores selecionadas, em seguida foram retiradas as folhas, eliminando, quando presentes, as folhas mais tenras. Para realizar as coletas foram observados pelo menos 3 dias sem chuvas. Após a coleta, o material foi acondicionado em sacos plásticos e rapidamente transferido para o Laboratório de Ecofisiologia do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, no Campus I - Agrárias da Universidade Federal do Paraná UFPR, onde o trabalho foi desenvolvido. Não foram distinguidas as procedências das folhas sendo as matrizes consideradas como parte de uma mesma população homogênea. O material coletado foi dividido em 4 partes correspondentes aos 4 tratamentos testados: secagem ao ar a temperatura ambiente, secagem em estufa com circulação de ar forçada a 40 °C, secagem em estufa com circulação forçada de ar a 60 ° e folhas frescas como controle. Para cada tratamento foram separadas amostras de 10 g de folhas para determinação da umidade: secagem em estufa 105 °C por 15 minutos para as folhas frescas, 65 °C para os restantes tratamentos, até obter massa constante, sendo o controle da secagem determinado pela massa túrgida das folhas amostradas.

No mesmo dia da coleta das folhas procedeu-se a extração de óleo das folhas frescas; as folhas secas em estufa a 40 e 60 °C e ao ar atingiram massa constante depois de 5 e 7 dias e após 60 dias para as folhas secas ao ar ambiente, ocasião em que também foram realizadas as extrações das amostras.

As extrações de óleo essencial foram realizadas por meio de hidrodestilação durante 2 horas e 30 minutos, em aparelho graduado tipo Clevenger (Wasicky, 1963), em balão de vidro com 2 L de capacidade, onde foram adicionados 1L de água destilada e 100 g de folhas frescas, 50 g de folhas secas a 40 °C e 60 °C e 25 g de folhas secas ao ar. Após a extração, o

óleo essencial foi quantificado com auxílio de micropipeta de precisão (0-100 µL) sendo as amostras armazenadas em freezer a -20 °C até o momento da análise.

As condições operacionais para aquisição do espectro de massa para identificação do óleo essencial, bem como o equipamento utilizado foram as seguintes: cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de massas (CG-MS) Varian com ion trap, modelo CP 3800/Saturn 2000 com coluna capilar Chrompack de sílica fundida CP-SIL 8 CB com 0.25mm de diâmetro interno, 30 m de comprimento e 0,25 µm de filme líquido; a temperatura do injetor foi de 250 °C, split 1:300; foram injetados de 0,2 a 0,5 µL de amostra; a temperatura do transfer line foi 250°C, manifold 80°C e do íon trap a 150 °C; a modulação axial foi 4V com intensidade de ionização de 70 eV; o modo de ionização foi realizado por impacto de elétrons; a temperatura inicial do forno foi de 60°C, sendo a elevação de temperatura 240 °C na razão de 3 °C permanecendo por 5 minutos. O tempo total da corrida foi de 65 minutos.

Para a quantificação dos constituintes do óleo essencial de *C. sylvestris* foram utilizados os seguintes equipamentos e condições operacionais: cromatógrafo gasoso Varian, modelo CP 3800 com detector FID (CG_FID), com coluna capilar Chrompack de sílica fundida CP-SIL 8 CB com 0.25mm de diâmetro interno, 30 m de comprimento e 0,25 µm de filme líquido; a temperatura do injetor foi de 250 °C, split 1:100; foi injetada 1,0 µL de amostra, utilizou-se 1mL/min constante de hélio como gás de arraste e ar sintético, nitrogênio e hidrogênio como gás de make up; a temperatura do detector FID foi 300 °C; a temperatura inicial do forno foi de 60 °C, sendo a elevação de temperatura 240 °C na razão de 3 °C permanecendo por 5 minutos. O tempo total da corrida foi de 65 minutos.

Os espectros de massa dos componentes do óleo foram comparados com espectros indexados na biblioteca NIST Mass Spectral Library e os componentes foram listados segundo o tempo de retenção.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo comparadas as produções de óleo essencial para 4 temperaturas de secagem, com três repetições. As médias foram testadas quanto à sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Os resultados obtidos submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas por regressão polinomial e pelo teste de Tukey a 5% e 1% de probabilidade. Utilizou-se o programa Assistat versão 7.4 beta (Silva; Azevedo, 2009).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Teor do óleo essencial

O teste de Tukey a 1% de probabilidade revelou que houve diferenças significativas entre as variáveis testadas para rendimento de óleo essencial de *C. sylvestris* (Figura 5).

O rendimento de óleo essencial foi superior nas folhas secas em estufa com temperatura do ar de 60°C com 10,22 $\mu\text{L g}^{-1}$ de massa seca de óleo (Figura 5). A seguir os melhores resultados foram obtidos para folhas secas em estufa a 40 °C (8,79 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS) e folhas secas ao ar ambiente (7,59 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS) como mostrado na Figura 5. O menor rendimento de óleo (2,03 $\mu\text{L g}^{-1}$ MS) foi obtido a partir de folhas frescas. A cor do óleo se apresentou amarelo claríssimo para as amostras de folhas frescas, cor amarelo claro para as amostras secas em estufa a 40°C e 60°C e cor amarelo mais intenso para folhas secas ao ar ambiente. Para todos o aroma foi semelhante ao de pitanga, a exceção do óleo seco ao ar ambiente, com mais notas de cedro.

O baixo rendimento obtido a partir de folhas secas ao ar ambiente (Figura 5) poderia ser devido ao longo período de tempo de secagem ao que as folhas foram submetidas (60 dias), que provavelmente, contribuiu à gradual volatilização do óleo presente.

Resultados semelhantes aos obtidos por Silva *et al.* (2004) para folhas frescas coletadas em Botucatu, as quais renderam de 0,36% a 0,2%, segundo o bioma de proveniência do material, mata ou cerrado.

A literatura apresenta resultados variados em relação ao rendimento e as temperaturas de secagem das folhas de *C. sylvestris*. Assim, Becker (2008) obteve em folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em Lajeado (RS), um rendimento de 1% de óleo essencial; Castellani *et al.* (2006) em folhas da mesma espécie secas ao ar ambiente obtiveram um teor de óleo essencial de 1% para folhas coletadas em Viçosa (MG); no Estado de Minas Gerais, Esteves *et al.* (2005) com o objetivo de testar o óleo essencial de *C. sylvestris* em edema epiteliar e úlcera induzidos em ratos, obtiveram de folhas secas ao ar ambiente 2,5% de óleo essencial.

A partir dos dados observados na bibliografia, a determinação de uma temperatura ideal de secagem para folhas de *C. sylvestris*, parece estar ligada à localização geográfica das plantas matrizes, sendo que, como sugerido por Souza (2009), as variações geográficas do óleo essencial, estão associadas em muitos casos com os parâmetros ambientais que caracterizam as localidades das populações naturais.

Contudo, quando comparados com outras espécies, os resultados obtidos resultam concordantes com quanto obtido por Martins (2000) em capim limão (*Cymbopogon citratus*) a qual verificou que, dentre os tratamentos de secagem (40°, 50° e 60°C), o rendimento do óleo essencial aumentou com o incremento na temperatura do ar de secagem. Igualmente folhas de hortelã (*Mentha x villosa* Huds) proporcionaram os maiores rendimentos extrativos quando o processo de secagem foi realizado com temperatura do ar de secagem igual a 50 °C (Radünz *et al*, 2006). Os mesmos autores observaram também que após os 50°C o teor de óleo de hortelã decresceu gradualmente, provavelmente devido à localização do óleo em estruturas mais sensíveis (pêlos glandulares, tricomas e glândulas epidérmicas), à temperatura de volatilização dos componentes desse óleo essencial.

No caso da *C. sylvestris* as estruturas secretoras e armazenadoras de óleo essencial, a diferença das folhas de hortelã, estão provavelmente localizadas entre as células do parênquima paliçádico, sendo, portanto, menos sensíveis à temperatura do que glândulas mais próximas à epiderme da folha. A elevada temperatura, pode ter interferido na permeabilidade da membrana das células ou na resistência físico/mecânica desses tecidos ou degenerando as paredes celulares e diminuindo o teor de água, levando provavelmente a uma concentração do óleo otimizando o processo de extração do vapor.

De forma geral e como pode ser visualizado na Figura 5, os tratamentos de secagem proporcionaram teores muito superiores ao tratamento sem secagem, sendo que o teor de óleo aumentou aproximadamente 81% das folhas frescas às folhas secas em estufa a 60°C. Estes resultados indicam que o tratamento de secagem a 60°C é recomendado para a obtenção de uma maior quantidade de óleo essencial.

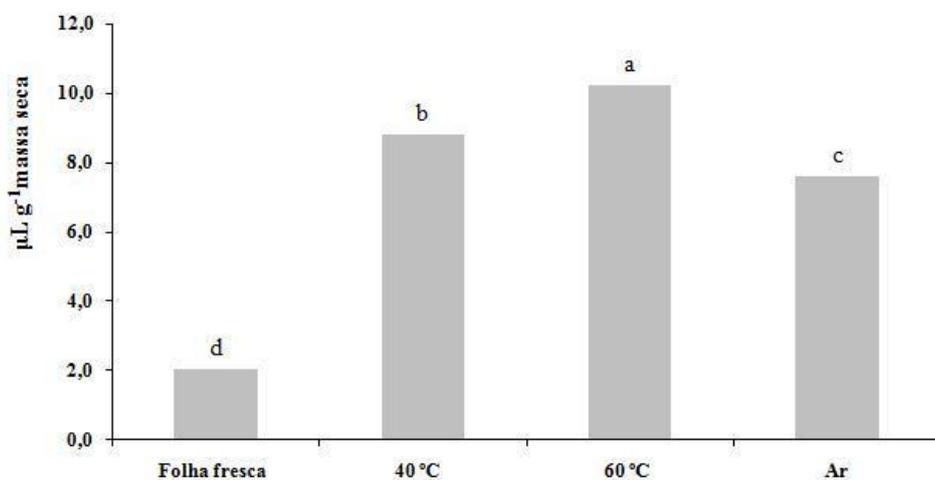


Figura 5 - Teor de óleo essencial (µL g⁻¹ massa seca) de folhas de *C. sylvestris* em função de quatro métodos de secagem.. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$).

4.3.2 Composição do Óleo Essencial

Na análise cromatográfica das amostras de óleo essencial de folhas submetidas a diferentes tratamentos de secagem, foram identificados 31 constituintes totais, representando de 87,97 a 94,59% do conteúdo total dos óleos voláteis. Para folhas frescas foram detectados só 24 componentes, 31 para as folhas secas em estufa a 40 °C e 60 °C e 23 componentes dos 32 totais para folhas secas ao ar ambiente.

Dentre os constituintes identificados encontram-se: δ -elemeno, β -elemeno, α -cubebeno, α -gurjuneno, trans-cariofileno, β -gurjuneno, α -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, germacreno A, δ -cadineno, germacreno B, espatulenol, óxido de cariofileno, espatulenol, tumbergol, bulnesol (Tabela 2).

A partir da análise de variância, foi observada variação da porcentagem dos constituintes conforme a cada tipo de secagem (Tabela 2). Os constituintes cujo teor foi mais elevado foram: biciclogermacreno (23,59% para 60 °C), tumbergol (16,56% para folhas secas ao ambiente), δ -cadineno (12,19% para 60°C), germacreno D (13,47% para 40°C), α -cubebeno (11,60% em folhas frescas), trans-cariofileno (11,37% em folhas frescas), espatulenol (7,71% em folhas secas ao ar ambiente), α -copaeno (6,24% em folhas frescas), cubebol ((6,15% em folhas frescas), β -elemeno (3,46% em folhas frescas), guaiol (3,06% em folhas frescas), bulnesol (3,01% para folhas frescas), 1-epicubenol (1,24% para folhas frescas).

Tais constituintes encontram-se na bibliografia, porém, com teores diferentes. Assim Becker (2006) determinou para óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris*, 20 compostos, dos quais cinco não foram identificados no presente trabalho (E- β -farneseno, β -chamigreno, β -eudesmol, epi- α -eudesmol e α -eudesmol) e sendo o β -elemeno (31,70%) e o α -humuleno (28,20%) os componentes majoritários.

Espécies que apresentam altos percentuais de germacreno D no óleo, geralmente são acompanhadas de menores porcentagens de γ -muuroleno, α -muuroleno, γ -cadineno, δ -cadineno, cadina-1,4-diene e α -cadineno, sendo o germacreno B provavelmente o precursor biogenético de tais sesquiterpenes (Setzer, 2008).

Tininis *et al.* (2006) identificaram em folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas pela manhã, os mesmos componentes identificados no presente trabalho, porém, com diferentes concentrações, sendo o germecrene D o componente majoritário (79,2%) seguido de germacreno B (14,8%), β -selineno (4,2%) e longifoleno (1,8%), este último não presente nos óleos aqui avaliados.

Tabela 2 - Composição do óleo essencial (%) de *C. sylvestris* em função de quatro métodos de secagem das folhas coletadas em junho de 2009.

Composto	folha fresca	40°	60°	ar ambiente
δ -elemeno	0,11 bc	0,42 a	0,34 b	-
α -cubebeno	11,60 a	0,14 bc	0,09 c	0,24 b
ciclosativeno	-	0,35 a	0,34 a	-
α -copaeno	6,24 a	3,15 c	3,61 bc	3,71 b
β -bourboeno	-	0,88 b	0,83 b	3,13 a
β -elemeno	3,46 a	1,48 b	2,05 b	1,53 b
α -gurjuneno	-	0,33 a	0,23 b	-
trans cariofileno	11,37 a	8,66 b	8,33 b	9,38 b
β -gurjuneno	0,53 b	0,98 a	1,06 a	0,29 c
α -guaieeno	0,26 b	0,96 a	1,05 a	-
α -humuleno	1,59 a	1,28 ab	1,04 b	1,20 ab
seicheleno	1,99 a	1,39 b	1,03 b	1,12 b
γ -muuroleno	-	0,75 b	1,01 b	1,96 a
germacreno D	12,93 a	13,47 a	10,59 ab	8,57 b
β -selineno	1,19 a	1,36 a	0,71 b	-
valenceno	-	-	1,18	-
biciclogermacreno	13,77 c	20,38 ab	23,59 a	17,44 bc
α -bulneseno	-	0,31 a	-	0,33 a
germacreno A	0,27 d	1,19 b	1,28 a	0,45 c
γ -cadineno	-	0,48 a	0,38 b	-
cubebol	6,31 a	2,24 b	0,63 c	0,60 c
δ -cadineno	6,15 b	11,21 a	12,19 a	10,84 a
germacreno B	1,04 b	1,44 a	1,30 ab	1,06 b
espatulenol	3,44 b	3,14 b	6,01 a	7,71 a
óxido de cariofileno	0,14 c	0,36 c	0,89 b	3,37 a
guaiol	3,06 a	0,28 b	0,09 c	-
epóxido II humuleno	-	0,54 b	0,77 a	1,26 a
1epicubenol	1,23 a	0,58 b	0,43 c	0,21 d
epi- α -cadinol	1,87 ab	1,95 a	0,84 b	1,44 ab
α -cadinol	1,28 ab	2,11 a	0,76 b	1,94 ab
bulnesol	3,01 a	0,10 b	0,14 b	-
thunbergol	2,11 d	6,31 c	9,97 b	16,56 a
TOTAL	94,59	87,97	91,02	93,93

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade

Dos onze compostos identificados em óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris* de exemplares colhidos nos biomas mata e cerrado por Silva *et al.* (2004), o componente majoritário foi o trans- β -guaieeno (33%), que no entanto não foi encontrado nas amostras do cerrado onde o germacreno D (41%) foi o composto majoritário. Os mesmos óleos apresentaram diferenças no teor de cis- β -ocimeno segundo a procedência, plantas de cerrado (40,25%) ou plantas de mata (1,36%), tal componente não foi detectado nas amostras

avaliadas no presente trabalho. Folhas secas ao ar ambiente por Esteves *et. al* (2005) renderam as seguintes porcentagens de constituintes principais: cariofileno (13,8%), thujopseno (5,2%), α -humuleno (3,7%), β -acoradieno (20,8%), germacreno D (1,9%), biciclogermacreno (40,9%), calameneno (1,5%), germacreno B (3,9%), espatulenol (12,6%) and globulol (2,2%). Tais dados concordam, em parte, com o obtido no presente trabalho, em que folhas secas ao ar ambiente apresentaram maior porcentagem de espatulenol (7,71%).

Silva *et al.* (2008) determinaram que, para folhas frescas de *C.sylvestris* hidrodestiladas durante 4 horas, os componentes majoritários foram: biciclogermacreno (43,6%), β -cariofilene (18,1%), α -humuleno (4,7%), espatulenol (15,9%), germacreno B (5,2%), α -humulene (4,7%), α -pinene (4,0%), germacreno D (3,9%), globulol (3,0%), α -muurolol (2,7%). Dois dos compostos mais presentes, o β -cariofilene e o α -humuleno podem ser os responsáveis pelos efeitos tóxicos em células tumorais HeLa, A-549 e HT-29, conforme tal estudo. Nesse trabalho não foram detectados o β -cariofilene, o α -pinene, o globulol e o α -muurolol, talvez pelo menor tempo de extração ao que foram submetidas as folhas.

Stefanello *et al.* (2007) obtiveram interessantes resultados em folhas e flores de *Casearia decandra* coletadas no mesmo local das plantas aqui estudadas, sendo a única referência bibliográfica que mencione a presença de thunbergol como componente de óleo essencial em *Casearia* sp. Os autores detectaram em flores de *C. decandra*, 18,6% de thunbergol, um diterpeno macrocíclico presente em várias espécies como pinus vermelho japonês (*Pinus densiflora*) (Pfeifhofer *et al.*, 2008) e plantas do gênero *Boswellia*, das quais se obtém o olíbano, também conhecido como franquincenso, uma resina aromática muito usada na perfumaria e fabricação de incensos nas quais o thunbergol contribui com a constituição do aroma característico (Mikhaeil *et al.*, 2003).

Outro responsável pelo aroma do óleo de *C.sylvestris* é o espatulenol, presente na maior porcentagem nas folhas secas ao ar ambiente (7,71%) e em folhas secas a 60 °C (6,01%). Tal composto é característico também de espécies do gênero *Baccharis* L. (Asteraceae), típicas da Mata Atlântica (Lago *et al.*, 2008). O espatulenol possui aroma de madeira seca, semelhante ao aroma de cascarilla (*Roton eleuteria*) e é utilizado como aromatizante alimentar e na composição de perfumes sofisticados (Mendes *et al.*, 2008).

No óleo avaliado, o trans-cariofileno se apresentou em maior medida nas folhas frescas (11,71%), sendo que provavelmente o aumento de temperatura contribuiu à sua degradação. Melo *et al.* (2004), afirmam que o processo de secagem pode propiciar a transformação e degradação dos constituintes químicos. O sesquiterpeno trans-cariofileno tem uma

comprovada atividade antimicrobiana, principalmente em fungos patogênicos e bactérias gram (+/-) (Almeida *et. al.*, 2005).

De forma geral, o número de componentes identificados foi maior nas folhas secas a 40 °C e 60 °C (Tabela 2) sendo que as porcentagens dos elementos constituintes do óleo foram superiores nas amostras secas à menor temperatura (40 °C). Tais resultados coincidem com o relatado por David *et al.* (2006) os quais concluíram que para folhas de *Ocimum selloi* Benth., o aumento da temperatura de secagem (40 °C, 50 °C, 60 °C e 70 °C) causou diminuição na proporção relativa dos sesquiterpenos e monoterpenos.

Observou-se que a secagem ocasiona a redução de alguns hidrocarbonetos sesquiterpênicos (trans cariofileno, β -elemeno, β -selineno) e aumento percentual de sesquiterpenos oxigenados, com função epóxido (óxido de cariofileno, epóxido de humuleno). Por outro lado, ocorreu um aumento considerável do sesquiterpeno oxigenado espatulenol, cujo teor em amostra de folha fresca foi 3,44% e após a secagem ao ar ambiente atingiu proporções de 7,71% e do thunbergol, de 2,11% nas folhas frescas até 16,56% em folhas secas ao ar ambiente (Tabela 2).

Compostos ausentes em folhas frescas ou em folhas secas, podem ter se originado de transformações e rearranjos (como isomerização, abertura dos anéis benzênicos ou oxidação) ocorridos durante o processo de secagem. Isso pode explicar o fato de não terem sido detectados ciclosativeno, β -bourboeno, γ -muuroleno, valenceno, α -bulneseno, γ -cadineno e epóxido II humuleno não detectados em folhas frescas (Tabela 2) e δ -elemeno, guaiol e bulnesol entre outros, ausentes em folhas secas ao ar ambiente. Segundo Njoroge *et al.* (2003), vários compostos também podem ser formados no manuseio do material vegetal (como a secagem) e sugerem que sesquiterpenos como o germacreno D podem ser convertido em cadinenos, muurolenos e elemenos e o espatulenol pode ser produto da oxidação do biciclogermacreno.

4. 4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, é possível concluir que:

Houve variação na quantidade e na constituição de óleo essencial de folhas de *C. sylvestris*, submetidas a vários tratamentos de secagem, quando comparadas com folhas frescas.

Os tratamentos que proporcionaram maior quantidade de óleo essencial foram as secagens em estufa a 40°C e 60°C.

O biciclogermacreno foi mais abundante em folhas secas a 40 e 60 °C e o δ -cadineno apresentou maior concentração em todos os tratamentos de secagem das folhas.

Os constituintes α -cubebeno, trans-cariofileno, α -copaeno, cubebol, β -elemeno, guaiol, bulnesol, 1-epicubenol e seicheleno apresentaram teores superiores em folhas frescas.

Thunbergol, espatulenol, γ -muuroleno e óxido de cariofileno apresentaram teores superiores em folhas secas ao ar ambiente.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. F. R.; DELACHIAVE, M. E. A.; MARQUES, M. O. M. Composição do óleo essencial de rubim (*Leonurus sibiricus* L. - Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 35-38, 2005.
- BARBOSA, A. D.; FERREIRA R. C. V.; VALENTE P. H. M. Atividade antimicrobiana de extratos fluidos de plantas medicinais brasileiras. **Lecta**, v. 12. n. 2. p. 153-63. 1994.
- BECKER, C. **Avaliação da atividade acaricida de óleos essenciais de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., em *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)**. 2008. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento) - Centro Universitário Univates. Lajeado, 2008.
- BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIÉRREZ, J. M.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 127, p. 21-30, 2000.
- CARVALHO, P. E. R. **Cafezeiro-do-Mato - *Casearia sylvestris***. Colombo: EMBRAPA-CNPF, Circular Técnica, n. 138, 2007. 16 p.
- CASTELLANI, D. C.; CASALI, V. W. D.; SOUZA, A. L.; CECON, P.R.; CARDOSO, C. A.; MARQUES, V. B. Produção de óleo essencial em canela (*Ocotea odorifera* Vell.) e guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz) em função da época de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n.8, p. 104-107, 2006.
- DABAGUE, I. C. M. **Rendimento e composição do óleo essencial de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) sob diferentes épocas de colheita e períodos de secagem**. 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná. 2008.
- DAVID, E. F. S.; PIZZOLATTO, M.; FACANALI, R. ; MORAIS, L. A. S. De; FERRI, A. F.; MARQUES, M. O. M. ; MING, L. C. Influência da temperatura de secagem no rendimento e composição química do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 66-70, 2006.
- De CARVALHO, P. R. F., FURLAN, M.; YOUNG, M. C. M.; KINGSTON, D. G. I.; BOLZANI, V. S., Acetylated DNA-damaging clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. **Phytochemistry**, n.49. p.1659-1662, 1998.
- DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A. The vegetation of priority areas for cerrado conservation in São Paulo State, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 217-241, 2003.
- ESPINDOLA, L. S.; VASCONCELOS JUNIOR, J. R.; DE MESQUITA, M. L.; MARQUIE, P., DE PAULA, J. E.; MAMBU, L.; SANTANA, J. M. Trypanocidal activity of a new diterpene from *Casearia sylvestris* var. *lingua*. **Planta Medica**, n.70, p. 1093-1095, 2004.

ESTEVEES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G.; SANTOS, L. S.; SERTIE, J. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v.101, p. 191-196, 2005.

FENNEL, C. W.; LIGHT, M. E.; SPARG, S. G.; STAFFORD, G. I.; VAN STADEN, J. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: agricultural and storage practices. **Journal of Ethnopharmacology**, n.95, p. 113-121, 2004.

IAPAR. **Cartas climáticas do Estado do Paraná**. doc.18. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 1994.

ITOKAWA, H., TOTSUKA, N.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; IITAKA, Y.; SCHENKEL, E.P.; MOTIDOME, M. New antitumor principles, casearins A-F, for *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae) **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 3384-3388, 1990.

LAGO, J. H. G.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; SOARES, M. G.; BARALDI, P. T.; CORRÊA, A. G.; SOUZ, O. A. Composição química dos óleos essenciais das folhas de seis espécies do gênero *Baccharis* de "Campos de Altitude" da Mata Atlântica Paulista. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 727-730, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992. 115 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v. 1, 2002. 131 p.

MARQUETE, R.; VAZ, A. M. S. F. da. O gênero *Casearia* no estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, n. 58, v. 4, p. 705-738, 2007.

MARTINAZZO, A. P. **Secagem, armazenamento e qualidade de folhas de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf**. 2006. 156p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 2006.

MARTINS, P. M. **Influência da temperatura e velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF)**. 2000. 77p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

MELO, E. C.; RADÜNZ, L. L.; MELO, R. C. A. Influência do Processo de Secagem na Qualidade de Plantas Medicinais. **Engenharia na Agricultura**, v. 12, n. 4, p. 307-315, 2004.

MENDES, S.; NUNES, D. S.; MARQUES, M. B.; TARDIVO, R. C.; CECHINEL FILHO, V.; SIMIONATTO, E. L.; WISNIEWSKI JR, A. Óleo essencial de *Baccharis semiserrata*, uma fonte de espatulenol. **Ciências Exatas Terra**, v. 14, v. 3, p. 241-245, 2008.

MIKHAEIL, B. R.; MAATOOQ, G. T.; BADRIA, F. A.; AMER, M. M. Chemistry and immunomodulatory activity of frankincense oil. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 58, v. 3-4, p. 230-238, 2003.

MORITA, H.; NAKAYAMA, M.; KOJIMA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H.; SCHENKEL, E.P.; MOTIDOME, M. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new

clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 3, p. 693-97, 1991.

NJOROGE, S. M., UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Changes of volatile profile and artifact formation in dadai (*Citrus aurantium*) cold-pressed peel oil on storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 14, p. 4029-4035, 2003.

OBERLIES, N. H.; BURGESS, J. P.; NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; FAIRCHILD, C. R.; PETERSON, R. W.; SOEJARTO, D. D.; FARNSWORTH, N. R.; DOUGLAS KINGHORN, A.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 95-99, 2002.

OLIVEIRA, Y. M. M. de.; ROTTA, E. Levantamento da estrutura vertical de uma mata de araucária do primeiro planalto paranaense. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4. 1982, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA, 1982. p. 27-41.

PFEIFHOFER, H. W.; IDZ'OTIC', M.; ZEBEC, M. The Needle Volatile Composition of *Pinus nigra* J. F. Arnold, *P. sylvestris* L., *P. densiflora* Siebold et Zucc. and *P. thunbergiana* Franco Trispecies Hybrids. **Silvae Genetica**, n. 57. n.4-5. p. 221-226, 2008.

PIMENTEL, F. A.; CARDOSO, M. G.; ZACARONI, L. M.; ANDRADE, M. A.; GUIMARÃES, L. G. L.; SALGADO, A. P. S. P.; FREIRE, J. M.; MUNIZ, F. R.; MORAIS, A. R.; DAVID LEE NELSON, D. L. Influência da temperatura de secagem sobre o rendimento e a composição química do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (barb. Rodr.) bur. & K. Shum. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 523-526, 2008.

RADÜNZ, L. L.; MELO, E.C.; BARBOSA, L. C. A.; SANTOS, R. H. S.; BARBOSA, F. F.; MARTINAZZO, A. P. Influência da temperatura do ar de secagem no rendimento do óleo essencial de hortelã-comum (*Mentha x villosa* Huds). **Engenharia na Agricultura**, v. 14, n. 4, p. 250-257, 2006.

SANTOS, M. R. A. dos; INNECCO, R. **Processamento de folhas de Lippia alba visando a maximização da produção de limoneno e carvona**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2005. 18 p. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/handle/item/18885> Acesso em: 4 ago. 2010.

SANTOS, A. G.; FERREIRA, P. M.; VIEIRA JÚNIOR G. M.; PEREZ, C.C.; GOMES TININIS A.; SILVA, G.H.; BOLZANI, V. S.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA C. O.; CAVALHEIRO, A. J. Casearin X, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumor human cells. **Chemistry and Biodiversity**, v.7, n.1, p. 205-15, 2010.

SELLAMI I. H.; MAAMOURI E.; CHAHED T.; WANNES W. A.; KCHOUK M. E.; MARZOUK B. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). **Industrial Crops and Products**, n. 30, p. 395-402, 2009.

SERTIÉ, J. A. A.; CARVALHO, J. C. T.; PANIZZA, S. Antiulcer activity of the crude extract from the leaves of *Casearia sylvestris*. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, p. 112-119, 2000.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009. Reno. **Proceedings...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. p. 393-394.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: Pós-colheita e óleos essenciais.** Viçosa: UFV, 2000. 135p.

SILVA, S. L.; CHAAR, J. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazônica**, v.38. n.1, p. 107-112, 2008.

SILVA, M. A. S ; MING, L. C. ; MARQUES, M. O. M. Composição e teor do óleo essencial de duas variedades de guaçatonga do cerrado e mata. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 44., 2004, **Anais...** Campo Grande: Horticultura Brasileira, 2004. p. 260-264.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1999. Cap.18, p.387-416.

SLEUMER, H. O. **Flora Neotropica Monograph:** Flacourtiaceae. New York: The New York Botanical Garden, n. 22, 1980. 499 p.

SOUZA, A. de. **Variabilidade dos óleos voláteis de espécies de Myrtaceae nativas da Mata Atlântica.** 2009. 351 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2009.

SETZER, W. N. Germacrene D Cyclization: An *Ab Initio* Investigation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, p. 89-97, 2008.

STEFANELLO, M. E. A.; WISNIEWSKI JR., A. ; SIMIONATTO, E. L. Composição do óleo essencial das folhas e flores de *Casearia decandra*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 30., 2007, Águas de Lindóia. **Anais...** , Águas de Lindóia: SBQ, 2007.

THADEO, M.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAUJO, J. M. de. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras da folha de *Casearia decandra* Jacq. (Salicaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 2, p. 329-338, 2009.

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de clewenger para extração de óleos essenciais. **Revista Faculdade de Farmácia e Bioquímica**, v. 1, n. 1, p. 77-81, 1963.

5 CAPÍTULO III ESTAQUIA CAULINAR DE PLANTAS ADULTAS DE *Casearia sylvestris* Swartz NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

RESUMO

Casearia sylvestris Swartz (Salicaceae), ou guaçatonga, é uma árvore nativa do México, América Central e do Sul, com grande importância ecológica, farmacológica e comercial. Como a maioria das espécies medicinais de interesse nativas do Brasil, a guaçatonga não é cultivada comercialmente, sendo obtida por extrativismo. O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de testar um protocolo de propagação vegetativa de *C. sylvestris* por meio da estaquia, visando identificar qual a melhor estação do ano para o enraizamento das estacas e avaliar o efeito da utilização do regulador vegetal ácido indolbutírico (AIB). Nas quatro estações do ano (outono, inverno e primavera de 2007 e verão de 2008), estacas caulinares semilenhosas de 12-14 cm de comprimento foram preparadas com duas folhas e tratadas com AIB (0, 1000, 2000 e 3000 mg L⁻¹), em solução hidroalcoólica, efetuando uma imersão rápida por 10 segundos, sendo plantadas em tubetes contendo substrato Plantmax HT®, em casa de vegetação sob nebulização intermitente. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, quatro tratamentos e 16 estacas por parcela. Todos os experimentos foram avaliados após 90 dias, sendo que para dois deles (primavera e verão 2008) foi prolongado o tempo de permanência em casa de vegetação para o melhor desenvolvimento das raízes. Foram consideradas as seguintes variáveis: porcentagem de estacas vivas (enraizadas, com calos e sem raízes, sem calos e sem raízes), porcentagem de folhas retidas, porcentagem de estacas mortas, número de raízes, comprimento das três maiores raízes (cm), média da massa seca das raízes (g). Não ocorreu enraizamento nas estacas retiradas no outono e no inverno. Com as estacas retiradas na primavera, obteve-se 39,1% de enraizamento. Estacas coletadas no verão não responderam como esperado, apresentando, após 240 dias, 6,3% de enraizamento no tratamento 3000 mg L⁻¹ de AIB. O AIB até 3000 mg L⁻¹ não estimula o enraizamento de estacas de *C. sylvestris* e a melhor estação do ano para a estaquia é a primavera.

Palavras-chave: Propagação vegetativa. Auxina. Enraizamento.

**ABSTRACT: STEM CUTTING OF *Casearia sylvestris* Swartz DURING THE YEAR
FOUR SEASONS**

Casearia sylvestris Swartz (Salicaceae), also known as guaçatonga, is a native tree from Mexico, Central and Southern America, with a great ecologic, pharmacological and economic relevance. Like most of Brazilian medicinal species, *Casearia sylvestris* is just collected from natural environments, and no cultivated orchards have been reported. The objective of this study was to test a new vegetative propagation of guaçatonga cuttings protocol, aiming to verify its rooting response to indolebutyric acid (IBA) throughout the year's four seasons. Semihardwood cuttings, with 12-14 cm length and two leaves, were dipped for 10 seconds in IBA (0, 1000, 2000 e 3000 mg L⁻¹) alcoholic solution, planted in plastic tubes containing Plantmax HT® and kept in greenhouse under intermittent mist conditions. The statistical analysis were made by completely randomized design with four repetitions of four treatments with 16 cuttings each. All the experiments were evaluate after 90 days, yet for the spring and summer ones an extra time was settled in order to obtain a better root development. The evaluated variables were: rooted percentage, alive cuttings percentage (callused non-rooted cuttings and non-rooted cuttings without callus), leaf retention percentage dead cuttings percentage, number of roots, length (cm) of main roots and dried mass average of roots per cuttings. No roots developed on cuttings collected during fall and winter. The rooting rate of the spring cuttings was 39,1%, for the zero hormones treatment. The cuttings collected in summer time did not show the expected results, presenting after 240 days a rooting average of 6,3% when treated with 3000 mg L⁻¹ of IBA. The auxin concentrations tested did not have any visible effect on *Casearia sylvestris* cuttings rooting, the use of plant growth regulator is thus not necessary and the best cutting age is spring.

Key words: Vegetative propagation. Auxin. Rooting.

5.1 INTRODUÇÃO

Casearia sylvestris Swartz, ou guaçatonga, é uma árvore cuja altura varia entre 3 e 18 m, com folhas persistentes e inflorescências fasciculadas multifloras (Marquete; Vaz, 2007). Tradicionalmente associada à família Flacourtiaceae (Joly, 1998), foi recentemente classificada como pertencente à Salicaceae (APG II, 2003). Difundida amplamente no México, América Central e na maioria dos países da América do Sul, é conhecida no Brasil por diversos nomes populares, tais como cafezinho-do-mato, erva-de-lagarto, café-bravo, entre muitos outros (Torres; Yamamoto, 1986; Marquete; Vaz, 2007). Ocorre em todos os Estados brasileiros e na maioria dos ambientes florestais, sendo uma espécie de alta densidade e ampla distribuição, especialmente em matas ciliares (Sleumer, 1980; Lorenzi, 1992; Durigan *et al.*, 2003; Marquete; Vaz, 2007).

C. sylvestris é popularmente utilizada na fitoterapia brasileira pelas suas propriedades antifélicas, antiinflamatórias, cicatrizantes, antivirais e antireumáticas (Borges *et al.*, 2000, 2001; Taylor, 2002; Esteves *et al.*, 2005). Nos últimos anos *C. sylvestris* tem sido citada como espécie interessante do ponto de vista farmacológico pela sua atividade antitumoral (Silva *et al.*, 2008) e antiulcerogênica (Ruppelt *et al.*, 1991). Estudos com essa espécie indicam que as substâncias responsáveis pelas atividades citotóxicas e antiulcerogênicas de *C. sylvestris* são os diterpenos clerodânicos denominados casearinas (Perez *et al.*, 2006).

Não obstante a evidente importância farmacológica e comercial de *C. sylvestris*, como a maioria das espécies medicinais de interesse nativas do Brasil, esta não é cultivada, sendo obtida por extrativismo (Silva, 2003). *C. sylvestris* propaga-se naturalmente pelas sementes, mas estudos recentes demonstraram que sua propagação vegetativa também é viável (Pereira *et al.*, 2003; Imatomi, 2007; Cavallari, 2008), podendo auxiliar em programas de reflorestamento e plantio de pomares clonais e padronização da matéria prima.

A ausência de protocolos mais exatos sobre sua propagação vegetativa compromete tanto as pesquisas de melhoramento genético e produção de mudas, quanto o aperfeiçoamento das técnicas de coleta e a exploração a nível industrial da espécie. Segundo Cavallari (2008) a propagação vegetativa por meio de estacas seria uma maneira de minimizar a pressão extrativista, possibilitando seu cultivo em larga escala.

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de testar um protocolo de propagação vegetativa de *C. sylvestris* por meio da estaquia, visando avaliar o efeito da aplicação de

diferentes concentrações do regulador vegetal ácido indol butírico (AIB) no enraizamento de estacas coletadas em diferentes estações do ano.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR, em Curitiba - PR. O material foi coletado de 7 exemplares adultos, com altura variando de 5 a 12 metros e 30 cm de DAP (diâmetro à altura do peito), localizados nos bosques do Campus II Jardim Botânico da UFPR em Curitiba-PR (Figura 6). As coordenadas geográficas centrais aproximadas da área de colheita são latitude 25°44'73,82''S e longitude 49°23'86,41''O, com altitude de 930 m. Amostras das plantas foram identificadas pelo Prof. Dr. Armando Carlos Cervi, do Departamento de Botânica da UFPR. Uma exsicata (n° 359149) foi depositada no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (PR).

Os experimentos foram implantados em quatro estações, nos anos 2007 e 2008: final do outono (29/05/07), final do inverno (4/09/2007), final da primavera (1/12/2007) e final do verão (4/03/2008). Os ramos foram coletados e colocados em baldes com água para evitar a desidratação, sendo efetuado um corte horizontal na extremidade superior e em bisel na base, próximo a uma gema.

As estacas utilizadas tinham consistência semilenhosa com folhas em todas as estações do ano, e foram retiradas das porções mais jovens de cada ramo, eliminando a parte apical, portanto entre o terceiro e o décimo nó. Foram mantidas duas folhas inteiras em cada estaca e todas possuíam entre 5 e 6 gemas aproximadamente, dependendo do comprimento dos entrenós. O tamanho das estacas variou entre 12 e 14 cm, e o diâmetro médio foi de 0,2-0,3 cm (Figura 7A). As estacas foram imersas a aproximadamente 3 cm da sua base, em soluções hidroalcoólicas de AIB por 10 segundos, constituindo dessa forma um tratamento de imersão rápida.

O preparo das soluções de AIB foi realizado diluindo-se o regulador na forma de pó em 25 ml de álcool etílico comum (98°GL), completando com água destilada até o volume final (50 ml). Foram testadas, em cada estação do ano, quatro diferentes concentrações de AIB: testemunha (solução hidroalcoólica 50%), 1000, 2000 e 3000 mg L⁻¹. Após a aplicação do AIB as estacas foram plantadas em tubetes de polipropileno com capacidade de 53 cm³, contendo substrato Plantmax HT® (Figura 7B). As bandejas com as estacas foram colocadas para enraizar em casa de vegetação, sob nebulização intermitente (das 8:00 às 17:00 h irrigação de 15 s a cada 15 min; das 17:00 às 23:00 h irrigação de 15 s a cada 1 hora e das 23:00 às 8:00 h irrigação de 15 s a cada 3 h).

Após aproximadamente 90 dias da instalação, foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de estacas enraizadas (estacas que apresentavam pelo menos uma raiz, com ou sem presença de calos); porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos), número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes (cm), média da massa seca das raízes por estaca (g), porcentagem de folhas retidas, porcentagem de estacas mortas (com necrose em toda ou na maior parte de sua extensão) (Figura 7C). No experimento do final da primavera a avaliação definitiva foi realizada após 60 dias do período pré-determinado de 90 dias (contabilizando um total de 150 dias) e no caso do final do verão e depois de 150 dias (contabilizando um total de 240 dias).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, quatro tratamentos (concentrações de AIB) e 16 estacas por unidade experimental. Para testar a homogeneidade das variâncias utilizou-se o Teste de Bartlett e para a comparação de médias, os dados foram submetidos ao Teste Tukey a 5% de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa ASSISTAT, versão 7.5 beta (Silva; Azevedo, 2009).



Figura 6 - *C. sylvestris*. A - Planta adulta, localizada no Bosque do Campus Jardim Botânico UFPR - Curitiba. B - Detalhe de ramo com inflorescência. C - Detalhe de ramo usado para estaquia.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Enraizamento de estacas de *C. sylvestris* na primavera

As estacas coletadas no final da primavera de 2008 foram as que apresentaram maiores porcentagens de enraizamento.

Tabela 3 – Porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade, porcentagem de folhas retidas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 e avaliadas aos 150 dias.

AIB (mg L ⁻¹)	Estacas vivas			Mortalidade (%)	Folhas retidas (%)
	Enraizadas (%)	Com calos e sem raízes (%)	Sem calos e sem raízes (%)		
0	39,1 a	15,6 a	6,3 a	39,1 b	52,3 a
1000	29,7 ab	23,4 a	4,7 a	42,2 ab	47,7 a
2000	40,6 a	21,9 a	3,1 a	34,4 b	49,2 a
3000	18,8 b	17,2 a	3,1 a	60,9 a	35,2 a
Média	32,1	19,5	4,3	44,1	46,1

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Conforme pode ser observado na Tabela 3 e Figura 7 D-E-F, a porcentagem média de enraizamento de estacas, decorridos 150 dias da instalação do experimento, foi de 32,1%. Os tratamento testemunha (39,1%) e 2000 mg L⁻¹ de AIB (40,6%), apresentaram os maiores percentuais de enraizamento, seguidos pelo tratamento 1000 mg L⁻¹ de AIB (29,7%) e 3000 mg L⁻¹ de AIB o qual apresentou a menor porcentagem de enraizamento (18,8%).

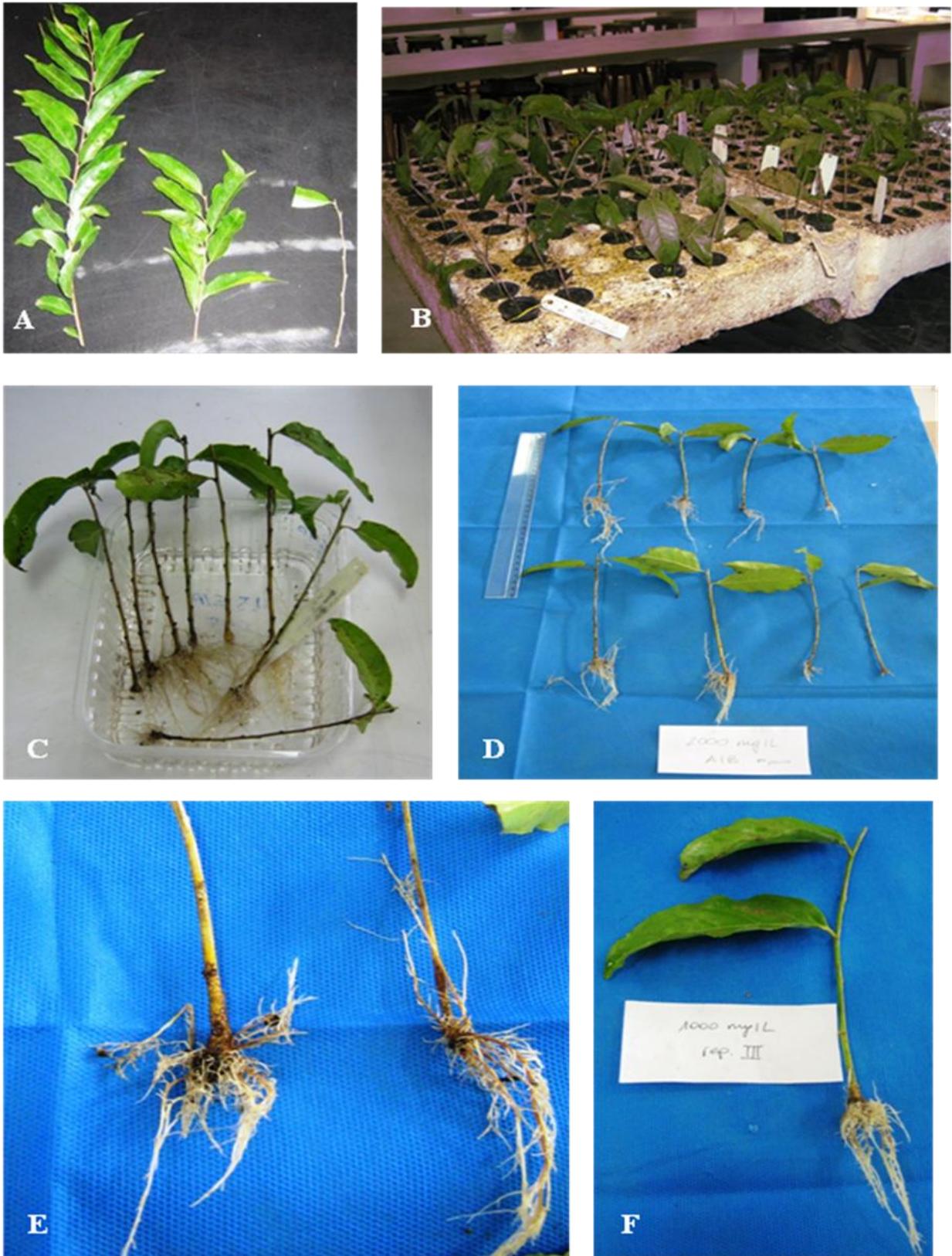


Figura 7 - Estaquia de *C. sylvestris* nas quatro épocas do ano. A - Confecção de estacas. B - Estacas plantadas em tubetes e mantidas em casa de vegetação. C - Bandeja para avaliação das estacas enraizadas. D - Estacas de *C. sylvestris* enraizadas após tratamento com 2000 mg L^{-1} de AIB. E - Detalhe do sistema radicial de duas estacas enraizadas no final do verão/2008 com 3000 mg L^{-1} de AIB. F - Estaca de *C. sylvestris* enraizada após tratamento com 1000 mg L^{-1} de AIB.

Como relatado por Hartmann *et al.* (2002), como forma de aumentar a porcentagem de enraizamento de estacas, tem sido utilizados alguns reguladores vegetais do grupo das auxinas, pois o seu emprego, na maioria dos casos, resulta em aumento na porcentagem de estacas enraizadas.

A influência positiva do uso de AIB foi confirmada por vários autores (Facchinello *et al.*, 1995; Pimenta *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2007; Bortolini *et al.*, 2007, 2008; Lana *et al.*, 2008), pois as aplicações exógenas de reguladores vegetais, principalmente auxinas, proporcionam maior porcentual, velocidade e qualidade para o enraizamento, embora as concentrações de regulador vegetal para o enraizamento a ser aplicado variem em função da espécie, do estado de maturação, das condições ambientais e da forma de aplicação (Hartmann *et al.*, 2002). Porém os dados obtidos para *C. sylvestris* não confirmaram o efeito benéfico do AIB.

Entretanto, outros estudos indicaram uma aparente ausência de correlação entre as concentrações de AIB aplicadas e a porcentagem de enraizamento. Inoue e Putton (2007) trabalhando com espécies florestais, dentre as quais *Casearia decandra*, observaram nas testemunhas taxas de enraizamento superiores às das estacas tratadas com AIB. Igualmente, Trevisan *et al.* (2008) trabalhando com estacas herbáceas de mirtilo verificaram que não houve efeito significativo do AIB na formação de raízes em estacas coletadas em fevereiro. Isso pode ser explicado, em parte, pelo material estar em pleno desenvolvimento, com o balanço hormonal interno favorável ao enraizamento, ocorrendo, portanto, uma resposta negativa às aplicações hormonais exógenas. Supõe-se que os níveis de auxina presentes nas estacas herbáceas foram suficientes para a formação das raízes.

Os níveis endógenos de auxinas nas plantas são controlados por vários processos, dentre os quais o de conjugação (Hartmann *et al.*, 2002). A auxina, quando conjugada, encontra-se covalentemente ligada a compostos de alto e baixo peso molecular que a tornam inativa. Para estar disponível para os processos fisiológicos e metabólicos, como o de enraizamento, precisa sofrer hidrólise e converter-se para sua forma livre, ou seja, ativa (Taiz; Zeiger, 2004). Alguns compostos fenólicos com ação antioxidante têm sido investigados para promover maior enraizamento em estacas, provavelmente inibindo a enzima oxidativa do ácido indolacético (AIA oxidase) a qual contribui para a inativação do hormônio (Tofanelli *et al.*, 2004).

A bibliografia reporta só dois trabalhos sobre estaquia de *C. sylvestris*. Imatomi (2007) coletou em duas estações do ano, inverno e verão, estacas lenhosas caulinares retiradas da base de árvores adultas de *C. sylvestris*, com 14 cm de comprimento e de 2,3 a 3,5 cm de diâmetro. Os tratamentos foram: corte lateral de 2 cm à base da estaca (ferimento) e imersão

por 24h em água e soluções de AIB (100 mg L^{-1} e 200 mg L^{-1}) e AIB com boro (100 mg L^{-1} e 200 mg L^{-1}) assim como estacas sem fermento e imersas por 5 segundos em misturas de ANA+AIB ($500 \text{ mg L}^{-1} + 1000 \text{ mg L}^{-1}$ e $250 \text{ mg L}^{-1} + 500 \text{ mg L}^{-1}$). A melhor época para a colheita das estacas foi o verão sendo a imersão rápida na combinação ANA+AIB ($500 \text{ mg L}^{-1} + 1000 \text{ mg L}^{-1}$) a que apresentou a maior porcentagem de enraizamento (25%).

Por sua vez Cavallari (2008), selecionou de árvores adultas de *C. sylvestris*, estacas apicais e medianas, com 7 a 12 cm de comprimento, coletadas no final da primavera. Os tratamentos consistiram em imersão lenta (24 horas) das estacas em soluções de nove concentrações de AIB: 0, 30, 60, 90, 120, 150, 300, 450 e 600 mg L^{-1} . Estacas apicais submetidas a concentrações até 90 mg L^{-1} de AIB forneceram a maior porcentagem de enraizamento (21,1%) apresentando melhores resultados do que as estacas medianas (7,7%). A porcentagem média de enraizamento das estacas caulinares obtida neste trabalho (32,1%) foi superior à porcentagem obtida por Imatomi (2007) e Cavallari (2008).

Em ambos os trabalhos, tanto o tipo de estaca (lenhosa) no caso de Imatomi (2007), quanto os tempos de permanência nas soluções de regulador vegetal (24h) no caso de Cavallari (2008), podem ter contribuído a um menor enraizamento. De um modo geral, as estacas herbáceas enraízam melhor e mais rapidamente do que as estacas lenhosas e semilenhosas sendo que a menor lignificação dos tecidos das estacas facilita a passagem das raízes formadas no periciclo (Hartmann *et al.*, 2002; Brazão, 2009). Concentrações elevadas de AIB ou imersões prolongadas em soluções de regulador vegetal podem apresentar efeitos negativos no enraizamento. Nos estágios iniciais de indução do enraizamento, altas concentrações de auxinas são necessárias, mas são inibitórias à organização e crescimento dos primórdios radiculares (Taiz; Zeiger, 2004).

A ausência de diferença significativa, no presente experimento, entre o tratamento sem regulador vegetal (testemunha) e o tratamento com 2000 mg L^{-1} de AIB, leva a pressupor que a aplicação de regulador vegetal não influencie o enraizamento das estacas e que concentrações elevadas de AIB (3000 mg L^{-1}) atuem negativamente. Talvez o possível excesso de auxina exógena, adicionada à endógena, possa ter apresentado efeito inibitório na indução radicial como relatado por Paes *et al.* (2006), ou porque os efeitos das auxinas exógenas podem variar durante o ano, influenciando positivamente o enraizamento ou agindo como inibidor, podendo até causar danos à planta (Zuffellato–Ribas, Rodrigues, 2001; Lana *et al.*, 2008).

No período do final da primavera de 2008, a porcentagem de estacas vivas com calos foi superior à porcentagem de estacas vivas sem calos, no momento da avaliação (Tabela 3). O

elevado número de calos apresentados, transcorridos os primeiros 90 dias após a instalação do experimento no começo de dezembro e a presença de pequenas raízes surgindo a partir destes, justificou a permanência das estacas em casa de vegetação por mais 60 dias, até as estacas atingirem um melhor desenvolvimento das raízes. Este resultado concorda com as observações feitas por Endres *et al.* (2007) em Pau-Brasil, cujos altos índices de sobrevivência e os baixos índices de enraizamento observados sugeriram que as estacas deviam permanecer por mais tempo sob nebulização, a fim de induzir o seu processo de enraizamento.

Em nenhuma estação do ano foram observadas estacas com brotações. A retenção foliar foi boa, sendo a porcentagem média de folhas retidas 46%, sem diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 3). Mayer e Pereira (2003) observaram, em estacas lenhosas de umezeiro (*Prunus mume*), que praticamente 100% das estacas enraizadas apresentavam pelo menos uma folha oriunda do ramo que deu origem à estaca, assim como a ausência de folhas resultou, em quase todos os casos, em estacas com calos ou mortas, tal como foi constatado no presente trabalho. Em estacas onde são retidas as folhas, a auxina endógena, produzida nas folhas e nas gemas, move-se naturalmente segundo um gradiente para a parte inferior do caule, aumentando a sua concentração na base, junto com os açúcares e outras substâncias nutritivas (Taiz; Zeiger, 2004). As folhas adultas servem como órgão de assimilação e reserva de carboidratos, os quais são cruciais para o sucesso do enraizamento. A preservação das folhas garante a sobrevivência das estacas, tanto pela síntese de carboidratos através da fotossíntese, como pelo fornecimento de auxinas e outras substâncias denominadas co-fatores de enraizamento (compostos fenólicos, poliaminas, jasmonato, brassinoesteróides), estimulando a atividade de troca de prótons das membranas que estimula a extensão e a diferenciação celular (Ono; Rodrigues, 1996; Hartmann *et al.*, 2002). Tal fato pode ter contribuído ao enraizamento e à falta de diferença significativa entre o tratamento testemunha e o tratamento com 2000 mg L⁻¹ de AIB.

No que se refere ao número de raízes por estaca, a comprimento das três maiores raízes e a variável massa seca de raízes por estaca, no período final da primavera não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). *C. sylvestris* segundo Forster e Melo (2007) possui um ritmo de crescimento médio, o que parece justificar os tempos prolongados de permanência em casa de vegetação, pois foram necessários cerca de 150 dias para obter um bom desenvolvimento das raízes.

Tabela 4- Número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 avaliadas aos 150 dias.

AIB (mg L ⁻¹)	Nº de raízes por estaca	Comprimento 3 maiores raízes (cm)	Massa seca das raízes (mg)
0	5,1 a	4,9 a	30 a
1000	4,6 a	5,0 a	60 a
2000	5,5 a	4,1 a	20 a
3000	2,6 a	3,4 a	20 a
Média	5,2	4,4	30

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

A ausência de brotações é um resultado negativo que pressupõe a continuação das pesquisas. A melhor estação do ano para o enraizamento de estacas de guaçatonga, foi o final da primavera concordando com o trabalho de Cavallari (2008). A estação de coleta está estreitamente relacionada com a consistência da estaca, e estacas coletadas no período de crescimento vegetativo intenso (primavera/verão) apresentam-se mais herbáceas e, de modo geral, espécies difíceis de enraizar, ou seja espécies nas quais o emprego de reguladores vegetais proporciona pouco ou nenhum benefício ao enraizamento das estacas, como *C. sylvestris*, mostram maior capacidade de enraizamento, enquanto estacas coletadas no inverno possuem maior grau de lignificação e tendem a enraizar menos (Fachinello *et al.*, 1995).

5.3.2 Enraizamento de estacas de *C. sylvestris* no verão

Nenhuma das estacas coletadas no verão e avaliadas após 90 dias apresentou raízes visíveis (Tabela 5). As estacas foram avaliadas para todas as demais variáveis e colocadas novamente no substrato de enraizamento, uma vez que as condições aparentes das estacas, e a baixa mortalidade média (21,9%), indicavam a possibilidade de um desenvolvimento positivo das raízes. A porcentagem média das estacas com calos foi de 32,4% e a de estacas sem calos foi de 45,7% (Tabela 5).

A boa taxa de sobrevivência das estacas em casa de vegetação pode estar relacionada a época da coleta do material, o final do verão, que é o período no qual *C. sylvestris* não está investindo em produção de estruturas sexuais (Lorenzi, 1992).

Tabela 5- Porcentagem de estacas vivas (sem raízes e. com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliados aos 90 dias. indolbutírico (AIB), no final do verão (de 2007) e avaliados após 90 dias. Curitiba- PR – 2010.

AIB (mg L ⁻¹)	Estacas vivas		Mortalidade (%)	Folhas retidas (%)
	Com calos e sem raízes (%)	Sem calos e sem raízes (%)		
0	28,1 b	51,6 a	20,3 a	60,9 a
1000	28,1 b	50,0 a	21,9 a	57,8 ab
2000	29,7 b	40,6 a	29,7 a	56,3 ab
3000	43,8 a	40,6 a	15,6 a	47,7 b
Média	32,4	45,7	21,9	55,7

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

Assim a alocação de biomassa é voltada para o crescimento das partes vegetativas, podendo proporcionar maior acúmulo de reservas nos tecidos (Taiz; Zeiger, 2004).

A porcentagem de folhas retidas foi de 55,7% e decresceu com o aumento das concentrações de AIB. Foi observado que quase todas as estacas apresentavam pelo menos uma folha retida, das duas iniciais. Tais resultados concordam com Machado *et al.* (2005) em estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’ (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). A presença das folhas nas estacas constitui fonte de auxinas e outros hormônios para a sua base, que são necessários para o enraizamento (Hartmann *et al.*, 2002). Fochesato *et al.* (2006) verificaram que o número de folhas presentes em estacas semilenhosas de louro (*Laurus nobilis* L.) apresentou grande influência sobre a sobrevivência das mesmas.

Com base em tais observações foi conduzida uma segunda avaliação do experimento implantado no final do verão. As expectativas não foram, porém, confirmadas completamente, pois após 240 dias da instalação, o número de estacas que apresentaram enraizamento foi mínimo (Tabela 6). Houve diferenças significativas entre os tratamentos e o tratamento com 3000 mg L⁻¹ de AIB proporcionou os melhores resultados (6,3%) (Tabela 6).

Tabela 6 - Porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.

AIB (mg L ⁻¹)	Estacas vivas (%)			Mortalidade (%)	Folhas retidas (%)
	Enraizadas (%)	c/ calos e s/ raízes	s/calos e s/ raízes		
0	1,6 b	14,0 b	31,3 a	51,6 bc	5,5 ab
1000	0	6,3 b	21,9 a	71,9 a	2,4 bc
2000	3,1 ab	15,6 ab	15,6 a	65,6 ab	0,9 c
3000	6,3 a	25,6 a	26,6 a	40,6 c	9,4 a
Média	2,75	15,4	23,9	57,4	4,6

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

Esse tratamento foi o que apresentou maior porcentagem de estacas vivas na avaliação relativa aos 90 dias (Tabela 5), portanto é possível que a maior sobrevivência e a maior concentração de AIB inicial tenham sido uma condição favorável ao maior enraizamento. Igualmente o tratamento que proporcionou o maior percentual de estacas enraizadas conservou também o maior número de folhas nas estacas, sendo a porcentagem de folhas retidas significativamente maior do que nos demais tratamentos (9,4%) (Tabela 6). Tal fato concorda com quanto descrito por Bordin *et al.* (2005), para os quais a presença da folha em estacas semilenhosas de porta-enxertos de videira IAC 766 e IAC 572 foi essencial para a formação de raízes adventícias em casa de vegetação.

Tabela 7 - Número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.

AIB (mg L ⁻¹)	Nº de raízes por estaca	Comprimento 3 maiores raízes (cm)	Massa seca das raízes (mg)
0	3 b	1 b	16 b
1000	0	0	0
2000	1,5 c	0,2 c	12 b
3000	8 a	3,3 a	97 a
Média	4,17	1,1	31,3

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

Observa-se, porém, que na segunda avaliação do experimento implantado no final do verão (Tabela 6), a porcentagem de estacas enraizadas foi baixa, quando comparada com os resultados obtivos em estacas colhidas no final da primavera (Tabela 3). Tal fato parece confirmar, que os fatores que mais influenciaram o enraizamento de *C. sylvestris* foram preferencialmente extrínsecos, como o tipo de estaca utilizada, estação de coleta, condições de umidade e, portanto, não ligados à aplicação de auxinas sintéticas.

O tratamento que apresentou o maior número de raízes por estaca, maior comprimento das três maiores raízes e maior massa seca foi com a concentração 3000 mg L⁻¹ de AIB (Tabela 7). O AIB promoveu, portanto, maior emissão de raízes adventícias nas estacas, aumentando o número e a massa seca das raízes emitidas, conferindo bom desenvolvimento das raízes (Figura 7E). A melhor resposta das estacas tratadas com a maior concentração de AIB com respeito ao tratamento testemunha poderia também ser devida à melhor condição geral das estacas e à maior retenção foliar das mesmas.

5.3.3 Enraizamento de estacas de *C. sylvestris* no outono e no inverno

As estacas colhidas no outono e no inverno não emitiram raízes adventícias. No período relativo ao final do outono, a porcentagem média de mortalidade foi elevada (76,2%) sendo que as estacas vivas não apresentaram calos e perderam também quase todas as folhas (Tabela 8). As estacas relativas ao tratamento com 3000 mg L⁻¹ de AIB diferiram significativamente dos demais tratamentos nas variáveis estacas vivas (sem calo e sem raízes) e mortalidade, porém, o aplicação do regulador vegetal não influenciou significativamente na retenção foliar.

Quase a totalidade das estacas coletadas no final do inverno morreram, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 8). Estacas tratadas com 2000 mg L⁻¹ de AIB apresentaram maiores percentuais de estacas vivas e de folhas, no entanto com valores muito modestos (Tabela 8).

Mindello Neto (2006), em estacas herbáceas de pessegueiro (*Prunus persica*), relatou enraizamento nulo ou insignificante quando as estacas estavam desprovidas de folhas. Nos dois períodos não foram observados calos nas estacas vivas no momento da avaliação, resultado que também concorda com o obtido por Endres *et al.* (2007) em que a formação de calos não foi relacionada com a concentração de auxina utilizada indicando que o alto índice de sobrevivência das estacas aparentemente não garante que as estacas estejam em processo de desdiferenciação, ou seja, ocorrendo a formação de calos ou rizogênese.

Segundo Neves *et al.* (2006) no outono, os dias curtos e as temperaturas baixas do ambiente exercem influência negativa no processo fotossintético das árvores matrizes. No inverno, dias curtos e baixas temperaturas alteram processos fisiológicos, como a fotossíntese e translocação de compostos, das árvores matrizes, o que pode dificultar o enraizamento das estacas obtidas. A porcentagem de enraizamento diminui com a proximidade do inverno, quando os níveis de ácido abscísico (ABA) são normalmente altos. Tais fatores provavelmente influenciaram o comportamento das estacas de *C. sylvestris* coletadas no presente trabalho. Para Neves *et al.* (2006), a porcentagem de estacas vivas de corticeira-da-serra (*Erythrina falcata* Benth) que não produziram raízes e nem calos foi maior nas estacas herbáceas e semilenhosas oriundas de árvores adultas nas coletas efetuadas no outono (26 a 34%).

Tabela 8 – Porcentagem de estacas vivas sem calos e sem raízes, porcentagem de folhas e mortalidade em estacas *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no final do outono/2007 e no final do inverno/2007 e avaliadas aos 90 dias.

AIB (mg L ⁻¹)	Outono			Inverno		
	S/calos s/ raízes (%)	Folhas retidas (%)	Mortalidade (%)	S/calos s/ raízes (%)	Folhas retidas (%)	Mortalidade (%)
0	15,6 b	14,0 ^{n.s.}	84,4 a	6,3 b	3,9 c	93,7 ^{n.s.}
1000	21,9 b	16,4	78,1 a	0	0	100,0
2000	14,1 b	10,9	85,9 a	14,1 a	10,9 a	85,9
3000	43,7 a	14,0	56,3 b	6,3 b	6,2 b	93,7
Média	23,4	13,8	76,2	6,7	5,3	93,4

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$) n.s. não significativo

3.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, é possível concluir que:

C. sylvestris pode ser considerada uma espécie de difícil enraizamento;

Para a rizogênese em estaca caulinar semilenhosa de *C. sylvestris* a melhor época de coleta é o final da primavera.

REFERÊNCIAS

- APG II: An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, p. 399-436. 2003.
- BORDIN, I.; HIDALGO, P. C.; BÜRKLE, R.; ROBERTO, S. R. Efeito da presença da folha no enraizamento de estacas semilenhosas de porta-enxertos de videira. **Ciência Rural**, v. 35, n.1, 2005.
- BORGES, M. H., SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S., GUTIÉRREZ, J. M.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 127, p. 21-30, 2000.
- BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; OLIVEIRA, F.; FRANSCHESCHI, A. M.; RUCAVADO, A.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I. Neutralization of proteases from Bothrops snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon**, v. 39, p. 1863-1869, 2001.
- BORTOLINI, M. F.; DOBIGNIES, A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R. Enraizamento de estacas caulinares de kudzu. **Scientia Agrária**, v.8, p. 1-10, 2007.
- BORTOLINI, M. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; CARPANEZZI, A. A.; DESCHAMPS, C.; OLIVEIRA, M. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, v. 8, n. 2, p.159-171, 2008.
- BRAZÃO, J. S. A. **Enraizamento de estacas semilenhosas de variedades de videira (*Vitis vinifera* L.)**. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Viticultura e Enologia) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, 2009.
- CAVALLARI, M. M. **Variabilidade genética e química entre e dentro de populações de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) no Estado de São Paulo**. 2008. 127 f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2008.
- COSTA, A. G.; STORK, R. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MOGOR, A. F. Diferentes concentrações de ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de melaleuca. **Horticultura Brasileira**, v. 1, p. 1-4, 2007.
- DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A. The vegetation of priority areas for cerrado conservation in São Paulo State, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 217-241, 2003.
- ENDRES, L.; MARROQUIM, P. M. G.; SANTOS, C. M. Dos, SOUZA, N. N. F. De. Enraizamento de estacas de Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) tratadas com ácido indolbutírico e ácido naftaleno acético. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 886-889, 2007.

ESTEVEES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G. V.; SANTOS, L. S.; SERTIE, J. A. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. T Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 191–196, 2005.

FACHINELLO, J.C. ; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: Universitária, 1995. 178p.

FOCHESATO, M. L.; MARTINS, F. T.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F.; BARROS, I. B. I. Propagação de louro (*Laurus nobilis* L.) por estacas semilenhosas com diferentes quantidades de folhas e tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 72-77, 2006.

FORSTER, H.F.; MELO, A.C.G. de. **Biomassa aérea e de raízes em árvores de reflorestamentos heterogêneos no Vale do Paranapanema, SP**. São Paulo: Instituto Florestal, Série Registros, v. 31, p. 153-157, 2007.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002, 880p.

IMATOMI, M. **Interferência de fatores bióticos e abióticos na propagação e conservação de *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae)**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

INOUE, M.T.; PUTTON, V. Macropropagação de 12 espécies arbóreas da Floresta ombrófila mista. **Floresta**, v. 37, n.1, p. 57-61, 2007.

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

LANA, R. M. Q.; LANA, A. M. Q.; BARREIRA, S.; MORAIS, T. R.; FARIA, M. V. Doses do ácido indolbutírico no enraizamento e crescimento de estacas de eucalipto (*Eucalyptus urophylla*). **Bioscience Journal**, v. 24, n. 3, p. 13-18, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992. p.115.

MACHADO, M. P.; MAYER, J. L. S.; RITTER, M.; BIASI, L. A. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’ (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 3, p. 476-479, 2005.

MARQUETE, R.; VAZ, A. M. S. F. da. O gênero *Casearia* no estado do Rio de Janeiro, **Rodriguésia**, n. 58,v. 4, p. 705-738, 2007.

MAYER, N.A.; PEREIRA, F.M. Enraizamento de estacas herbáceas de quatro clones de umezeiro (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) durante o inverno ameno, em Jaboticabal-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 505-507, 2003.

MINDÊLLO NETO, U. Estaquia herbácea de pessegueiro cv. Charme, em função de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) e número de folhas. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, n. 1, p. 27-29, 2006.

NEVES, T. dos S.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARENCO, R. A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p.1699-1705, 2006.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. 1.ed. Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia - FUNEP, 1996. v.1, 83p.

PAES, E.G.B. ; HÖGER FILHO, G.; BRITO, F. P. de; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Estaquia de *Abelia x grandiflora* Hort. ex L. H. Bailey. **Cultura agrônômica**, v. 15, n. 1, p. 26-36, 2006.

PEREIRA, V.A.M.; PARON, M.E.; MING, L.C. Enraizamento de estacas de *Casearia sylvestris* Swartz. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 6., 2003, São Pedro. **Resumos...** São Paulo: FCFAr/IQ/Unesp, 2003. Disponível em: http://www.fcfar.unesp.br/jppm/cd/pdf_fitotecnia/V.A.M.Pereira.pdf. Acesso em: 20 out. 2010.

PEREZ C. C., TININIS A.G., SANTOS A. G. DOS, BOLZANI V.S., CAVALHEIRO A.J. Otimização da separação de casearinas por CLAE preparativa, através de planejamento fatorial e superfície de resposta. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29, 2006, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química, 2006.

PIMENTA, A.C.; OLIVEIRA, B. H. ; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A., KOEHLER, H. S. Interações entre reguladores vegetais, estações do ano e tipos de substrato no enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (pau-de-leite). **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 50, p. 53-67, 2005.

RUPPELT, B.M., PEREIRA, E.F., GONÇALVES, L.C., PEREIRA, N.A. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom-I. Analgesic and anti-inflammatory activities. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 203-205, 1991.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009. Reno. **Proceedings...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. p. 393-394.

SILVA, M.A.S. **Variabilidade genética e fitoquímica de *Casearia sylvestris* Sw. em populações do cerrado e mata atlântica do Estado de São Paulo**. 2003. 127 f. Tese (Doutorado em Agronomia e Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2003.

SILVA, S.L. ; CHAAR, J. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 1, p. 10 -112, 2008.

SLEUMER, H. O. **Flora Neotropica**: Monograph n.22 (Flacourtiaceae). New York: The New York Botanical Garden, 1980. 499 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, L. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAYLOR, L. **Herbal secrets of the rainforest**. 2.ed. Austin: Sage Press, 2002. 360 p.

TOFANELLI, M. B. D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. 2,6 di-hydroxyacetophenone on rooting of peach semi-herbaceous cuttings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, 2004.

TORRES, R. B.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Casearia* Jacq. (Flacourtiaceae) do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 9, p. 239-258, 1986.

TREVISAN, R.; FRANZON, R. C.; FRITSCHÉ NETO, R.; GONÇALVES, R. S.; GONÇALVES, E. D.; ANTUNES, L. E. C. Enraizamento de estacas herbáceas de mirtilo: influência da lesão na base e do ácido indolbutírico. **Ciência agrotécnica**, v. 32, n. 2, p. 402-406, 2008.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia**: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos. Curitiba: [K.C. Zuffellato-Ribas]. 2001. 39 p.

6 CAPÍTULO IV ESTAQUIA DE BROTAÇÕES DE PODA DE PLANTAS ADULTAS DE *Casearia sylvestris* Swartz

RESUMO

A *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae) ou guaçatonga, é uma árvore medicinal nativa da América Central e do Sul, cujas folhas são tradicionalmente utilizadas na forma de chá pela medicina popular para o tratamento de problemas gástricos em geral assim como picadas de cobra e abelha e investigadas para a cura do câncer e outras doenças. Apesar de sua importância comercial e medicinal, existem poucos trabalhos publicados sobre a produção de mudas e técnicas de propagação vegetativa da espécie. A propagação de *C. sylvestris* por estaquia pode ser um método eficiente para obtenção de material homogêneo, com características genéticas desejáveis, produzido a partir de plantas matrizes selecionadas. O presente trabalho teve por objetivo estudar os efeitos da aplicação de ácido indol butírico (AIB) em solução no enraizamento de estacas semilenhosas de *C. sylvestris* coletadas no começo da primavera de 2008 (7 de outubro de 2008). As estacas, obtidas de brotações de poda de plantas adultas podadas em março de 2008, situadas no Bosque do Campus II da Universidade Federal do Paraná (Jardim Botânico) em Curitiba-PR, foram confeccionadas com diâmetro variando entre 0,2 e 0,5 cm e com comprimento entre 8 e 10 cm mantendo-se um par de folhas na porção apical. Posteriormente foram tratadas com AIB (0, 1000, 2000, 3000 mg L⁻¹), em solução hidroalcoólica (50% v/v). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 4 repetições de 16 estacas por parcela. Aos 180 dias foram avaliadas a porcentagem de estacas enraizadas, número e comprimento médio de raízes, porcentagem de estacas vivas com calos e vivas sem calos, número médio de folhas retidas e porcentagem de estacas mortas. A porcentagem média de enraizamento foi 66,01%, sendo que o AIB não exerceu qualquer influência no enraizamento. O número médio de raízes formadas por estaca foi de 6,47 enquanto que o comprimento médio de raízes chegou a 4,01 cm com 50,03% de folhas retidas.

Palavras-chave: Rejuvenescimento. AIB. Guaçatonga. Espécie medicinal.

ABSTRACT: ROOTING OF *Casearia sylvestris* Swartz CUTTINGS FROM REJUVENATED BRANCHES.

Casearia sylvestris (Salicaceae), known as guaçatonga, is a native medicinal tree from Central and Southern America whose leaves are traditionally used in popular medicine as infusion for gastric problems treatments and as antivenin for snakebites and bee stings. Pharmaceutic uses include the application of leave extracts in anticancer and other diseases drugs. Although it's commercial and medicinal relevance, there are just few published works related to seedling production and vegetative propagation techniques for this species. *C.sylvestris* propagation by cuttings can be an efficient method to obtain homogeneous material, with desirable genetic characteristics, produced from selected mother plants. The work aimed to study the effect of indolebutyric acid application (IBA), on cuttings rooting of *C.sylvestris*, collected in early spring 2008 (October 2008). Semihardwood cuttings from shoots grown after previous pruning (March 2008) were collected from stockplants located at UFPR Campus II - Jardim Botânico woods, in Curitiba - Paraná. Plant material, 8-10 cm in length and 0,2 e 0,5 cm in diameter, was prepared maintaining a pair of leaves and treated with IBA (0, 1000, 2000, 3000 mg L⁻¹) in hydroalcoholic solution (50% v/v). The experiment was set in randomized blocks design with 4 treatments, 4 replicates and 16 cuttings per plot. After 180 days were evaluated the following variables: rooted cuttings percentage, number and mean length of roots/cutting, percentage of cuttings with callus, percentage of retained leaves per treatment, cuttings mortality percentage. Higher percentage of rooted cuttings was obtained no IBA 66,01%, the mean number of roots/cutting was 6,47, while the mean length of roots/cutting was 4,01cm with an average of 50,01% retained leaves per treatment.

Key words: Regrowth. IBA. Guaçatonga. Medicinal species.

6.1 INTRODUÇÃO

Casearia sylvestris Swartz, ou guaçatonga, segundo um dos inúmeros nomes populares, é uma árvore medicinal pertencente à família Salicaceae, cujas folhas, ramos e raízes são amplamente utilizadas na medicina popular contra picadas de cobra e abelha, afeções do estômago e cicatrizante (Lorenzi, 2002). Estudos farmacológicos testaram amplamente suas propriedades antiúlcera (Basile *et al.*, 1990), antitumorais e antiinflamatórias (Almeida, 1999), genotóxicas (Maistro *et al.*, 2004), antifúngicas (Borges *et al.*, 2000).

A propagação de *C. sylvestris* pode ocorrer sexuada ou assexuadamente, por rebentos nascidos das raízes (Imatomi, 2007) ou estacas caulinares (Cavallari, 2008). O percentual mais alto de germinação das sementes de *C. sylvestris* foi de 47% a 25 °C (Rosa; Ferreira, 2001). Pode haver dormência nas sementes, assim como existe variação quanto ao comportamento germinativo e a produção de plântulas de sementes provenientes de diversas localidades (Imatomi *et al.*, 2001). Além disso as sementes precisam de longo tempo para germinação e emergência e de temperaturas constantes como as obtidas no interior de mata onde, não havendo insolação direta plena, não há variações drásticas nas temperaturas diárias e sazonais (Rosa; Ferreira, 2001).

No que se refere à propagação assexuada, ou vegetativa, os resultados obtidos até agora em *C. sylvestris* não foram muito promissores. O material utilizado, proveniente de plantas adultas, proporcionou porcentagens de enraizamento e brotação baixas ou nulas (Imatomi, 2001; Cavallari, 2008). A viabilidade do uso da estaquia na propagação, com objetivo comercial, depende da facilidade de enraizamento da espécie/cultivar, da qualidade do sistema radicial formado e do desenvolvimento posterior da planta (Fachinello *et al.*, 2005).

Para a formação das raízes adventícias, são necessários determinados níveis de substâncias naturais que, em proporções e concentrações adequadas, se acumulam na zona de regeneração de raízes, favorecendo a emissão das mesmas (Taiz; Zeiger, 2004; Hartmann *et al.*, 2002). Tais substâncias, são auxinas carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, compostos fenólicos e substâncias não identificadas (Lima, 2008).

O ácido indol butírico (AIB), uma auxina sintética, é mais estável e menos solúvel que a auxina endógena, ácido indol acético (AIA), pois é fotoestável, de ação localizada, persistente, não tóxico em ampla gama de concentrações e não é atacado por ação biológica, sendo portanto, considerado um dos melhores estimuladores do enraizamento (Miranda *et al.*, 2004).

Os co-fatores de enraizamento são substâncias de ocorrência natural, tais como polifenóis e certos compostos fenólicos, como ácido caféico, catecol e ácido clorogênico, que interagem sinergisticamente com as auxinas induzindo a iniciação das raízes (Felzener *et al.*, 2008). Tais fatores são sintetizados nas gemas e folhas jovens e, em maior quantidade, em estacas provenientes de plantas jovens (Hartmann *et al.*, 2002, Taiz; Zeiger, 2004), dessa forma, é caracterizada a importância para muitas espécies a manutenção de folhas e gemas em atividade vegetativa, pois são responsáveis pela síntese de cofatores, auxinas e carboidratos (Fachinello *et al.*, 2005).

O aumento da idade ontogenética da planta, traz como inevitável consequência na clonagem de muitas espécies, especialmente lenhosas, a redução ou até perda completa da capacidade de enraizamento (Hartmann *et al.*, 2002). Possivelmente este fato esteja relacionado com o aumento no conteúdo de inibidores e a diminuição de cofatores à medida que aumenta a idade da planta (Betanin, 2008).

A maioria das plantas arbóreas sofre mudanças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas durante a transição da fase juvenil para a adulta, principalmente, com relação ao potencial de clonagem, vigor de crescimento e resistência a doenças (Wendling; Xavier, 2001).

Para a propagação vegetativa, é de fundamental importância a identificação de quais indivíduos ou órgãos se apresentam juvenis ou podem ser rejuvenescidos, por exemplo, por meio de podas (Wendling; Xavier, 2001). Sendo assim, é recomendável a coleta de brotações jovens em plantas adultas, as quais, mesmo não caracterizando uma verdadeira condição de juvenilidade, têm mais facilidade de enraizamento (Fachinello *et al.*, 2005).

O objetivo do presente trabalho foi incrementar a porcentagem de enraizamento de estacas caulinares de *C. sylvestris* utilizando material rejuvenescido a partir de planta adulta e pela aplicação de diferentes concentrações de AIB em solução hidroalcoólica.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

A coleta de *C. sylvestris* foi realizada no começo da primavera de 2008 (7/10/2008), sete meses após a poda (Figura 8A). As plantas não apresentavam ainda botões florais. Os ramos semilenhosos foram obtidos de plantas matrizes às margens do Bosque do Campus II da Universidade Federal do Paraná (Jardim Botânico), em Curitiba, Paraná, sendo as coordenadas geográficas do local latitude sul 25°26'50,29" e longitude oeste 49°14'18,35". O solo é caracterizado como Gleissolo Háptico (Embrapa, 2003), estando situado a aproximadamente a 900 m de altitude. O clima da região é o subtropical úmido mesotérmico (Cfb, segundo a classificação de Köppen), sem estação seca definida, com temperatura média nos meses mais quentes de 22 °C e 12 °C nos mais frios, valores médios anuais de precipitação de 1.450 mm e 81% de umidade (Iapar, 1994).

As estacas caulinares foram confeccionadas com diâmetro variando entre 0,2 e 0,5 cm e com comprimento entre 8 e 10 cm, com corte em bisel na base e transversal acima da última gema axilar, mantendo-se um par de folhas na porção apical. As bases das estacas foram imersas em soluções hidroalcoólicas (50% v/v) de AIB nas concentrações de 0, 1000, 2000 e 3000 mg L⁻¹, por 10 segundos. O plantio foi realizado em tubetes de 53 cm³ contendo Plantmax HT® como substrato (Figura 8B). O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 4 repetições de 16 estacas por parcela.

As estacas foram mantidas em casa de vegetação com irrigação intermitente, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, com o seguinte tempo de rega: 15 segundos a intervalos de 15 minutos, das 8h às 17h; 15 segundos de rega a cada hora, das 17h às 23h e 15 segundos de rega a cada 3 horas, das 23h às 8h.

Aos 180 dias após o plantio, foram avaliadas as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas (estacas que apresentavam pelo menos uma raiz, com ou sem presença de calos); porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos); porcentagem de estacas que apresentavam brotações apicais; porcentagem de estacas mortas (com necrose em toda ou na maior parte de sua extensão), número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes formadas por estaca (cm) e número de folhas retidas por tratamento.

Para testar a homogeneidade das variâncias se utilizou o Teste de Bartlett. Após os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa ASSISTAT, versão 7.5 beta (Silva; Azevedo, 2009).



Figura 8 - Estaquia de brotações de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*. A - Brotações de poda de *C. sylvestris*. B - Estacas plantadas em tubetes e mantidas em casa de vegetação prestes a serem avaliadas. C - Detalhe do sistema radicial de estaca de *C. sylvestris* enraizada após tratamento com 1000 mg L^{-1} de AIB. D - Estacas de *C. sylvestris* enraizadas após tratamento com 2000 mg L^{-1} de AIB.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis porcentagem de estacas vivas com calos e sem raízes, porcentagem de estacas vivas sem calos e sem raízes e porcentagem de estacas com brotações apicais, não foram sujeitas à análise de variância por haver somente 3 estacas sem calos e sem raízes (tratamentos com 1000 mg L⁻¹, 2000 mg L⁻¹ AIB e testemunha), e 1 estaca com calo e sem raiz (tratamento testemunha). A Tabela 9 ilustra os resultados da análise de variância das demais variáveis, os quais serão discutidos separadamente.

Tabela 9 - Porcentagem de enraizamento, número de raízes, comprimento das 3 maiores raízes, porcentagem de folhas retidas e mortalidade de estacas de brotações de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), avaliadas aos 180 dias.

AIB (mg L ⁻¹)	Enraizamento %	Nº de raízes por estaca	Comprimento 3 maiores raízes (cm)	Folhas retidas (%)	Mortalidade (%)
0	60,93 ^{n.s.}	6,77 ^{n.s.}	4,21 ^{n.s.}	53,90 ^{n.s.}	35,94 ^{n.s.}
1000	71,88	6,31	3,66	51,56	26,56
2000	76,56	7,06	4,21	54,69	21,88
3000	54,69	5,72	3,96	40,63	45,31
Média	66,00	6,47	4,01	50,03	34,00

n.s. não significativo

6.3.1 Porcentagem de estacas enraizadas

As porcentagens de enraizamento obtidas em brotações de plantas adultas de *C. sylvestris* encontram-se na Tabela 9. Não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos, sendo a média de enraizamento de 66,00%, resultado excelente, se comparado com os dados encontrados na bibliografia sobre a propagação por estaquia de *C. sylvestris*. Autores como Pereira *et al.* (2003), Cavallari (2008) e Imatomi (2007) relataram porcentagens de enraizamento muito inferiores às obtidas no presente trabalho. Pereira *et al.* (2003) obtiveram somente 10% de enraizamento em estacas apicais de plantas adultas de *C. sylvestris*, no tratamento 2000 mg L⁻¹ de AIB, em imersão de 1 minuto; Cavallari (2008), obteve 21,1% de enraizamento em estacas apicais de *C. sylvestris*, submetidas a imersão lenta (24 horas) em concentrações até 90 mg L⁻¹ de AIB; por sua vez Imatomi (2007), em estacas lenhosas caulinares retiradas da base de árvores adultas de *C. sylvestris*, obteve, após imersão rápida na combinação ANA+AIB (500 mg L⁻¹ + 1000 mg L⁻¹), 25% de enraizamento. Todos os autores utilizaram propágulos de ramos adultos, os quais enraizaram somente após a

aplicação de regulador vegetal; no presente trabalho a simples poda dos ramos, com o relativo rejuvenescimento das brotações, renderam dispensável a utilização do regulador vegetal aumentando de forma considerável o enraizamento da espécie (66,00%).

Vários autores constataram que o enraizamento de estacas apicais ou subapicais era incrementado significativamente por meio de podas constantes nas plantas matrizes (Kibbler *et al.*, 2004; Scaloppi Junior *et al.*, 2004). A poda, junto com outras técnicas como as enxertias e estaquias seriadas, a estaquia de raiz, a micropropagação por subculturas consecutivas de meristemas, proporciona um revigoramento fisiológico (Wendling; Xavier 2001; Hartmann, *et al.*, 2002). O revigoramento consiste na aplicação de práticas, como neste caso a poda, mas também adubação, irrigação, sombreamento e controle de pragas e doenças, que visem retornar a planta a um estado de alto vigor fisiológico (Heberle, 2010). Já o rejuvenescimento pode ser considerado como a forma de reversão do tecido das plantas do estado maduro para o juvenil (Wendling; Xavier, 2005).

Estudos sobre caramboleira confirmaram também que estacas retiradas de plantas juvenis apresentaram melhores resultados de enraizamento em relação àquelas retiradas de plantas adultas, observando-se 47% de enraizamento com estacas juvenis e nenhuma estaca enraizada com estacas adultas. Tal fato provavelmente ocorreu devido às características fisiológicas das plantas matrizes, pois quando uma planta encontra-se na fase juvenil, apresenta um maior teor de co-fatores de enraizamento e menor teor de inibidores (Bastos *et al.*, 2009).

É provável que devido ao renovado vigor do material utilizado o nível de auxinas endógenas tenha sido suficiente para promover um bom enraizamento em todos os tratamentos. Osterc *et al.* (2009), trabalhando com cerejeira ornamental (*Prunus subhirtella*), constataram que estacas derivadas de plantas rejuvenescidas *in vitro* continham à sua base o dobro da auxina natural AIA (ácido indol acético) de estacas retiradas de plantas de mais de 40 anos de idade. As estacas retiradas das plantas jovens enraizaram melhor do que estacas de plantas adultas. Igualmente Bitencourt *et al.* (2009) afirmam que a aplicação de AIB não otimizou o enraizamento das estacas de brotação do ano de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.), o que para os autores pode indicar a ausência de um co-fator necessário ao enraizamento ou até mesmo a presença de composto que diminua o potencial de enraizamento de estacas provenientes de material adulto.

A quantidade crítica limite de regulador vegetal depende, porém, de fatores como a espécie propagada e as características genéticas intraespecíficas da mesma (Fachinello *et al.*, 2005). Contudo ainda não está claro se o comportamento das estacas está associado a

diferenças genéticas que afetam a capacidade de enraizamento ou é simplesmente uma expressão do crescimento e das condições fisiológicas e da planta matriz (Kibbler *et al.*, 2004).

6.3.2 Número médio de raízes por estaca

Não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos, portanto o regulador vegetal não influenciou o número de raízes adventícias, sendo o número médio de raízes 6,47 (Tabela 9).

Segundo o relatado por Neves *et al.* (2006) em cortiçeira-da-serra (*Erythrina falcata* Benth.), estacas oriundas de brotações apresentaram bom desempenho no que se refere à porcentagem de enraizamento em comparação com estacas herbáceas e semilenhosas, sendo que o tratamento com AIB não incrementou a indução de raízes, nem contribuiu para aumentar o comprimento da raiz, independentemente do tipo de estaca.

Os resultados obtidos no presente trabalho concordam com as afirmações de Scaloppi Junior e Martins (2003). Esses autores afirmam que o AIB não promoveu incrementos no enraizamento das espécies de *Annonaceae*, sendo o sucesso do enraizamento dependente da espécie e da época do ano, havendo, portanto, um período favorável à realização da estaquia, com as espécies *A. glabra* e *A. montana*. Por outro lado Fochesato *et al.* (2006), relatam que em estacas com duas folhas de loureiro (*Laurus nobilis* L.) a concentração de 2000 mg L⁻¹ de AIB possibilitou a formação de um maior número de raízes (3,5 raízes/estaca), evidenciando como o regulador vegetal apresenta ações diversas em diferentes espécies (César *et al.*, 2009).

De acordo com Nachtigal (1999), não há na literatura uma referência ao número e comprimento adequado de raízes nas estacas, no entanto, esses fatores estão relacionados à capacidade de sobrevivência e de desenvolvimento da planta após o período de formação das raízes, favorecendo melhor fixação da muda no solo e maior eficiência para absorção de nutrientes de água.

6.3.3 Comprimento médio das três maiores raízes por estaca

Para a variável comprimento médio de raízes por estaca, também não houve diferença significativa entre as médias, sendo, 4,01 cm a média obtida (Tabela 9) (Figuras 8C e 8D). Igualmente Bordin *et al.* (2003) não obtiveram diferença significativa quanto ao comprimento médio de raízes por estaca de acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) em nenhum dos seus

tratamentos com AIB (0, 500, 1000, 1500 e 2000 mg L⁻¹). Resultados semelhantes foram achados por Bortolini *et al.* (2007) os quais constataram que, em estacas caulinares de kudzu (*Pueraria lobata* (Willd) Ohwi) e, no verão, o maior comprimento médio de raízes por estaca foi na testemunha (5,22 cm), mas não diferiu significativamente dos demais tratamentos com AIB (500, 1000, 1500 mg L⁻¹), sendo respectivamente 4,69 cm, 4,45 cm e 4,21 cm.

Em estacas caulinares de quaresmeira (*Tibouchina fothersgillae* (D.C.) Cogn) tratadas com três diferentes concentrações (0, 500 e 1000 mg kg⁻¹) de ácido naftaleno acético (ANA), o comprimento médio das três maiores raízes por estaca não apresentou diferença significativa dentre os tratamentos, o comprimento variou entre 2,9 e 3,7 cm, sendo a maior média obtida no tratamento com 500 mg kg⁻¹ de ANA (César *et al.*, 2009).

Igualmente Andrade *et al.* (2007), trabalhando com o enraizamento de estacas herbáceas de amoreira-preta, constatando que não houve diferença significativa em função da concentração de regulador utilizada, verificando-se valores entre 3,6 e 4,1 cm e concluindo que a total ausência do regulador é benéfica em vista de se diminuir as atividades com mão-de-obra e aquisição do regulador vegetal. Da mesma, forma foi observado que em estacas semilenhosas de figueira (*Ficus carica* L.) tratadas com AIB preparado em pó em diferentes concentrações (0, 2500, 5000, 7500 e 10000 mg L⁻¹), o maior comprimento médio ocorreu nos meses de setembro e outubro no tratamento testemunha, sendo o tratamento com maior concentração de AIB (10000 mg L⁻¹) o que proporcionou raízes mais curtas (Ramos *et al.*, 2008). Tais resultados confirmam o relatado e ainda com Carvalho *et al.* (2005), não verificando efeitos significativos do AIB na qualidade do sistema radicial de estacas de lichia.

Neste sentido, é necessário lembrar que para a obtenção de mudas de qualidade, a porcentagem de enraizamento é tão importante quanto a formação de um bom aparato radicial. Um sistema radicial com maior número de raízes, bem desenvolvidas e capazes de fixar a muda solidamente no solo, é mais eficiente do que um sistema radicial com raízes muito compridas e escassas, mas frágeis e sujeitas a enmaranhamento o que pode comprometer a absorção de água e sais minerais, diminuindo o vigor e as chances de sobrevivência da muda.

6.3.4 Porcentagem de folhas retidas

Para a variável porcentagem de folhas retidas também não houve diferença entre as médias dos tratamentos. A retenção foliar média foi 50,03%, (Tabela 9).

Nesse sentido, em estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’ (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*) Machado *et al.* (2005) relataram que a porcentagem de estacas que não perderam a folha (retenção foliar), decresceu com o aumento das concentrações de AIB e as estacas não tratadas com AIB apresentaram a maior porcentagem de retenção foliar (68,8%), resultados semelhantes aos obtidos no presente trabalho. Lima *et al.* (2007), testaram o efeito da presença ou da ausência de estípulas foliáceas, da ausência de folha e da presença de meia, uma e duas folhas, para estimulação do enraizamento de estacas semilenhosas de maracujazeiro amarelo nativo (*Passiflora actinia* Hooker) e constataram que a presença de uma maior área foliar na ausência das estípulas favoreceu não somente a porcentagem de enraizamento, como também a qualidade da raiz formada. Além disso, para os autores, as folhas foram determinantes para o sucesso do enraizamento das estacas semilenhosas, sendo que a presença de uma ou duas folhas na ausência de estípulas conferiu maior enraizamento, comprimento, número e massa seca às raízes.

A presença de folhas nas estacas é necessária e tem efeito benéfico pois nelas se dá a síntese de carboidratos assim como a produção de auxinas e co-fatores de enraizamento, os quais são translocados para a base das estacas, contribuindo para o processo morfogênico de formação de novos tecidos, como as raízes (Hartmann *et al.*, 2002). Para manter adequado suprimento de carboidratos, necessários a formação de raízes, é importante que o ambiente de enraizamento tenha uma névoa intermitente, pois as gotículas de água formam uma fina camada sobre a superfície das folhas, mantendo a sua umidade e fazendo com que estas percam calor e se refrigerem, possibilitando a fotossíntese das folhas (Ono; Rodrigues, 1996).

A aplicação de AIB e a retenção de folhas em estacas herbáceas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) cv. Charme, melhoraram o enraizamento, e o tratamento mais efetivo foi aquele que combinou 1000 mg L⁻¹ de AIB com 2 a 8 folhas nas estacas (Mindello Neto *et al.*, 2005). Lima *et al.* (2003) comparando diferentes áreas foliares em estacas semilenhosas de duas espécies de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip Ex. Baker e *Mikania glomerata* Sprengel) verificaram que o aumento da variável área foliar incrementou a porcentagem de enraizamento e a redução da mortalidade em ambas as espécies. A área foliar adequada para uma estaca de determinada espécie é aquela que tem tamanho grande o bastante para produzir fotoassimilados e pequeno o suficiente para reduzir a perda de água por transpiração (Hartmann *et al.*, 2002).

Para Gontijo *et al.* (2003), a presença de folhas é importante para o enraizamento de estacas de aceroleira; em estacas sem folhas não ocorreu a formação de raízes. Contudo, são

poucas as informações sobre a quantidade ideal de folhas que devem estar presentes nas estacas para se obter enraizamento satisfatório (Mindêllo Neto *et al.*, 2005).

6.3.5 Porcentagem de estacas mortas

Para a variável porcentagem de estacas mortas, como para as precedentes variáveis, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Para Machado *et al.* (2005) em porta-enxertos de videira, a porcentagem de estacas mortas teve um comportamento quadrático crescente, diferindo do presente trabalho, a menor porcentagem de estacas mortas ocorreu na ausência de AIB (2,5 %), enquanto com a maior concentração da auxina (3000 mg L⁻¹) utilizada, obtiveram-se 43,8 % de estacas mortas.

A morte das estacas durante o processo de enraizamento em casa de vegetação, normalmente está associada à ocorrência de agentes causadores de podridões, principalmente fungos, e à ausência de formação de raízes, que faz com que ocorra um esgotamento das reservas de nutrientes das estacas (Nachtigal, 1999).

6.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, foi possível concluir que:

Estacas semilenhosas de *C. sylvestris* provenientes de brotações de poda de plantas adultas possuem um bom potencial para o enraizamento e vigor radicial.

Não é necessária a aplicação de AIB para a formação de raízes nas estacas desta espécie.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. **Atividade antiinflamatória e antitumoral do extrato hidroalcolico de *Casearia sylvestris*: estudo comparativo com os antiinflamatórios piroxicam e meloxicam.** 1999. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1999.
- ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G.; SILVA, M. T. H., TUROLLA, I. G. Propagação da amora-preta por estaquia utilizando ácido indolbutírico. **Caatinga**, v. 20, n. 2, p. 79-83, 2007.
- BASILE, A. C; SERTIE, J. A. A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C.A. pharmacological assey of *Casearia sylvestris*. I. Preventive antiulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, n. 2, p. 185-197, 1990.
- BASTOS, D. C.; SCARPARE FILHO, J. A.; FATINANSI, J. C.; PIO, R. Influência da idade biológica da planta matriz e do tipo de estaca caulinar de caramboleira na formação de raízes adventícias. **Ciência Agrotecnica.**, v.33, ed. especial, p. 1915-1918, 2009.
- BETANIN, L. **Fenologia, frutificação e propagação por estaquia da corticeira-da-serra (*Erythrina falcata* Benth.).** 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, 2008.
- BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 277-281, 2009.
- BORDIN, I.; ROBERTO, S. R.; NEVES, C. S. V. J.; STENZEL, N. M. C.; FURLANETO, T. L. R. Enraizamento de estacas de acerola sob concentrações de ácido indol-butírico. **Semina**, v. 24, n. 2, p. 261-264, 2003.
- BORTOLINI, M. F. DOBIGNIES, A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R. Enraizamento de estacas caulinares de Kudzu. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 2, p. 135-140, 2007.
- BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIÉRREZ, J. M.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I . Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 127, p. 21–30, 2000.
- CARVALHO, C. M.; CUNHA, R. J. P.; RODRIGUES, J. D. Enraizamento de estacas semilenhosas de lichieira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 95-97, 2005.
- CAVALLARI, M. M. **Variabilidade genética e química entre e dentro de populações de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) no Estado de São Paulo.** 2008. 127 f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2008.
- CÉZAR, T. M.; SOUZA, F. C. de; MACIEL, R. T.; DEMBISKI, W.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S.; Estaquia e alporquia de *Tibouchina*

fothergillae (D.C.) Cogn. (Melastomataceae) com a aplicação de ácido naftaleno acético. **Scientia Agraria**, v. 10, n. 6, pp. 463-468, 2009.

EMBRAPA. Mapa da Série Brasil Geográfico, escala 1:5.000.000, IBGE, 2002; editada em 2003.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221p.

FELZENER, L. T.; BARREIRO, A. P.; ONO, E. O.; BARROS-CARDOSO, S. A.; RODRIGUES, J. D. Efeitos de reguladores vegetais no enraizamento de estacas caulinares de *Poncirus trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n.2, 2008.

FOCHESATO, M. L.; MARTINS, F. T.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F.; BARROS, I. B. I. Propagação de louro (*Laurus nobilis* L.) por estacas semilenhosas com diferentes quantidades de folhas e tratadas com ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 72-77, 2006.

GONTIJO, T. C. A.; RAMOS, J. D.; MENDONÇA, V.; PIO, R.; NETO, S. E. A., CORRÊA, F. L. O. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 25, n. 2, p.290-292, 2003.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 880p., 2002.

HEBERLE, M. **Propagação in vitro e ex vitro de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (vell.) Arrabida ex Steudel)**. 2010. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2010.

IAPAR. **Cartas climáticas do Estado do Paraná**. doc.18. Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina. 1994.

IMATOMI, M. **Interferência de fatores bióticos e abióticos na propagação e conservação de *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae)**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

KIBBLER H., JOHNSTON M. E., WILLIAMS R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell. 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 102, p. 133-143, 2004.

LIMA, D. M. **Propagação vegetativa de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reisse)**. 2008. 182 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LIMA, D. M.; ALCANTARA, G. B.; FOGAÇA, L. A.; QUOIRIN, M.; CUQUEL, F. L.; BIASI, L. A. Influência de estípulas foliáceas e do número de folhas no enraizamento de estacas semilenhosas de maracujazeiro amarelo nativo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.29, p. 671-676, 2007.

LIMA, N. P.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. Estaquia semilenhosa e análise de metabólitos secundários de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, n. 2, p. 47-54, 2003.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 4º ed., v.1, 2002, p.131

MACHADO, M. P., MAYER, J. L. S.; RITTER, M.; BIASI L. A. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira 'Vr043-43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 27, n. 3, p. 476-479, 2005.

MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J. C. T.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and v 79 cells by the comet assay. **Toxicology in vitro**, v. 18, p. 337-342, 2004.

MINDÊLLO NETO, U. R.; TELLES, C. A.; BIASI, L. A. Enraizamento de estacas semilenhosas de nectarineiras tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 11, n. 3, p. 299-301, 2005.

MIRANDA, C. S.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; DUTRA, L. F.; COELHO, G. V. A. de. Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estacas lenhosas dos porta-enxertos de pessegueiro okinawa e umezeiro. **Ciência Agrotecnica**, v. 28, n. 4, p. 778-784, 2004.

NACHTIGAL, J.C. **Obtenção de porta-enxertos 'Okinawa' e de mudas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) utilizando métodos de propagação vegetativa**. 1999. 165 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

NEVES, T. S.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARENCO, R. A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p. 1699-170, 2006.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Botucatu: Unesp/Funep, 1996. 83p.

OSTERC, G.; ŠTEFANČIČ, M.; ŠTAMPAR, F. Juvenile stockplant material enhances root development through higher endogenous auxin level. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, n. 5, 2009.

PEREIRA, V.A.M.; PARON, M.E.; MING, L.C. Enraizamento de estacas de *Casearia sylvestris* Swartz. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 6., 2003, São Pedro. **Resumos...** São Paulo: FCFAr/IQ/Unesp, 2003. Disponível em: http://www.fcfar.unesp.br/jppm/cd/pdf_fitotecnia/V.A.M.Pereira.pdf. Acesso em: 20 out. 2010.

RAMOS, D. P.; LEONEL, S.; DAMATTO JUNIOR, E. R. Avaliação da época de estaquia e uso de bioregulador no enraizamento de estacas de figueira. **Revista Brasileira Fruticultura**. v. 30, n. 3, p. 748-753, 2008.

ROSA, S. G. T. da; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botânica Brasileira**, v. 15, n. 2, p. 147-154, 2001.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; DE JESUS, N.; MARTINS, A. B. G. Capacidade de enraizamento de variedades de nespereira submetidas à poda de renovação. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 61-64, 2004.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G.. Vegetative propagation of four Annonaceae rootstocks. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 25- 29, 2003.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009. Reno. **Proceedings...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. p. 393-394.

TAIZ, L.; ZEIGER. L. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n.1, p. 187-194, 2001.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e ds miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 921-930, 2005.

7 CAPÍTULO V ESTAQUIA DE BROTAÇÕES DE DECEPA E DE PODA DE PLANTAS ADULTAS DE *Casearia sylvestris* Swartz

RESUMO

Casearia sylvestris Swartz (Salicaceae), ou guaçatonga, é uma planta medicinal nativa da América Central e do Sul, cujas folhas são tradicionalmente utilizadas no tratamento de problemas gástricos, picadas de cobra e abelha e investigadas para a cura do câncer e outras doenças. Uma das mais importantes consequências do envelhecimento ontogenético para a clonagem é a redução, ou até mesmo a perda, da capacidade de enraizamento, verificada em plantas adultas. A propagação por estaquia de explantes fisiologicamente mais jovens, portanto com maior capacidade de enraizamento, pode ser um método eficiente para a obtenção de mudas de *C. sylvestris*. O presente trabalho teve por objetivo estudar os efeitos da aplicação de ácido indol butírico (AIB), em solução no enraizamento de estacas semilenhosas de *C. sylvestris* coletadas no começo da primavera/2009. As estacas, foram obtidas a partir de brotações de decepta e de poda de plantas adultas podadas precedentemente, sendo praticadas deceptas do tronco a 30 e 120 cm e podas de ramos de 2,5–3 cm de diâmetro, praticadas a 35 cm do ramo principal. As plantas matrizes nativas encontravam-se na Estação Experimental da UFPR do Canguiri, em Pinhais-PR. As estacas foram confeccionadas com diâmetro variando entre 0,25 e 0,3 cm e com comprimento de 12 cm mantendo-se um par de folhas com área reduzida pela metade na porção apical, em seguida foram tratadas com AIB (0, 1500, e 3000 mg L⁻¹), em solução hidroalcoólica (50% v/v). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado do tipo fatorial 3 x 3 (três tipos de estaca e três concentrações de AIB) com 6 repetições de 16 estacas. Aos 180 dias foram avaliadas porcentagem de estacas enraizadas; porcentagem de estacas vivas; porcentagem de estacas com calos e sem raízes, porcentagem de estacas com brotações apicais; porcentagem de estacas mortas, número de raízes por estaca e comprimento das três maiores raízes formadas por estaca (cm), número de folhas retidas por tratamento e massa seca das raízes. Estacas de *C. sylvestris* obtidas de brotações de poda apresentaram maior enraizamento sem aplicação de AIB (95,81%). Estacas de *C. sylvestris* obtidas de brotações de deceptas de 30 e 120 cm apresentaram estímulo ao enraizamento em decorrência da aplicação de AIB até a concentração de 1500 mg L⁻¹.

Palavras-chave: Enraizamento. AIB. Decepta. Guaçatonga. Espécie medicinal.

**ABSTRACT: ROOTING OF STEM CUTTINGS FROM SEVERELY PRUNED
Casearia sylvestris Swartz ORTETS**

Casearia sylvestris (Salicaceae) is a native medicinal plant from Central and Southern America, traditionally used in popular medicine for gastric problems treatments, as antivenin for snakebites and bee stings. Pharmaceutic uses include the application of leave extracts in anticancer and other diseases drugs. One of the most serious consequences of ontogenic aging in mature plants is manifested by a substantial reduction or even loss of the rooting ability. The use of physiologically younger explants, with higher inner rooting ability, could represent a promising way to obtain *C. sylvestris* cuttings. The aim of the work was to study the effect of indolebutyric acid application (IBA), in solution, on cuttings rooting of *C. sylvestris*, collected in early spring 2009 (October 2009). Semihardwood cuttings from shoots grown after previous severe pruning of ortets trunks (30cm and 120cm) and branches (2,5–3cm of diameter, cutted 35 cm from the main branch insertion) were collected from stockplants located at the Cangüiri Experimental Station -UFPR, in Pinhais-PR. Plant material, 12 cm in length and 0,25 e 0,3 cm in diameter, was prepared maintaining a pair of half leaves and treated with IBA (0, 1500 and 3000 mg L⁻¹) hydroalcoholic solution (50% v/v). The experiment was set in randomized blocks design with 3x3 treatments (3 different shoots positions x 3 IBA concentrations), 6 replications and 16 cuttings per plot. After 180 days were evaluated the following variables: rooted cuttings percentage, number and mean length of roots/cutting, mean number of retained leaves per treatment, percentage, percentage of cuttings with apical shoots, percentage of cuttings with callus, percentage of cuttings survival, percentage of cuttings mortality. A higher percentage of rooted cuttings was obtained without IBA from shoots grown from pruned branches (95,81%). *C. sylvestris* cuttings from stumped trunks (30 and 120cm) rooted after 1500 mg L⁻¹ IBA tratments.

Key words: Rooting. IBA. Stumping. Guaçatonga. Medicinal species.

7.1 INTRODUÇÃO

Casearia sylvestris Swartz, ou guaçatonga, é uma árvore medicinal pertencente à família Salicaceae, cujas folhas, ramos e raízes são amplamente utilizadas na medicina popular contra picadas de cobra e abelha, afecções do estômago e cicatrizante (Lorenzi, 2002). Estudos farmacológicos testaram amplamente as propriedades antiúlcera (Basile *et al.*, 1990), antitumoral (Almeida, 1999), genotóxicas (Maistro *et al.*, 2004), antiofídicas (Borges *et al.*, 2000) e antiinflamatórias (Almeida, 1999). É amplamente difundida no México, América Central e Caribe assim como na maioria dos países da América do Sul desde a Colômbia até o Paraguai e norte da Argentina (Lorenzi, 1992). *C. sylvestris* ocorre em todos os Estados brasileiros e na maioria dos ambientes florestais, sendo uma espécie de alta densidade e ampla distribuição, especialmente em matas ciliares (Sleumer, 1980; Lorenzi, 1992; Durigan *et al.*, 2003; Marquete; Vaz, 2007).

A propagação de *C. sylvestris* pode ocorrer sexuada ou assexuadamente, por rebentos nascidos das raízes (Imatomi, 2007) ou estacas caulinares (Cavallari, 2008). O percentual mais alto de germinação das sementes de *C. sylvestris* foi de 47% a 25 °C (Rosa; Ferreira, 2001). Pode haver dormência nas sementes, assim como existe variação quanto ao comportamento germinativo e a produção de plântulas de sementes provenientes de diversas localidades (Imatomi, 2007). Além disso as sementes precisam de longo tempo para germinação e emergência e de temperaturas constantes como as obtidas no interior de mata onde, não havendo insolação direta plena, não há variações drásticas nas temperaturas diárias e sazonais (Rosa; Ferreira, 2001). Tais dificuldades de germinação de suas sementes dificultam a produção de mudas, tornando a clonagem por estaquia uma alternativa à propagação sexuada.

A maioria das plantas arbóreas sofre mudanças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas durante a transição da fase juvenil para a adulta, principalmente, com relação ao potencial de clonagem, vigor de crescimento e resistência a doenças (Wendling; Xavier, 2001).

Uma das mais importantes consequências do envelhecimento ontogenético para a clonagem é a redução, ou até mesmo a perda, da capacidade de enraizamento, verificada em plantas adultas (Hartmann *et al.*, 2002). Possivelmente este fato esteja relacionado com o aumento no conteúdo de inibidores e a diminuição de cofatores à medida que aumenta a idade da planta (Betanin, 2008).

A transição da fase juvenil para a adulta é gradual (homoblástica) e acompanhada por mudanças nas características vegetativas como morfologia, filotaxia, quantidade de espinhos,

capacidade de enraizamento e retenção de folhas em espécies decíduas. Porém, a transição da fase adulta vegetativa para a adulta reprodutiva é abrupta (heteroblástica), pois o florescimento envolve grandes alterações no padrão de morfogênese e diferenciação celular do meristema apical do caule (Hartmann *et al.*, 2002; Taiz; Zeiger, 2004). Segundo Wendling e Xavier (2001), a maturação em plantas lenhosas, ou perda do caráter juvenil, é assunto de extrema importância em vista, principalmente, das variações na capacidade de propagação vegetativa, nas taxas e formas de crescimento, na qualidade e rapidez da formação de raízes, das mudanças nas características de crescimento, morfologia foliar e, também, a mudanças fisiológicas e bioquímicas, com a transição para o estado maduro.

A sequência cronológica das três distintas fases de desenvolvimento (juvenil, adulta vegetativa e adulta reprodutiva) resulta num gradiente espacial de juvenilidade ao longo do dossel da planta denominado cone de juvenilidade, aonde zonas com maior juvenilidade são aquelas situadas mais próximas à base da árvore, aumentando-se o grau de maturação à medida que se aproxima do ápice da planta (Taiz; Zeiger, 2004). Segundo Hartmann *et al.* (2002), os brotos provenientes das gemas laterais de base possuem maior juvenilidade dos tecidos e são mais vigorosos, fatores que melhoram a capacidade de enraizamento dos mesmos.

Além disso, plantas podadas podem fornecer grandes quantidades de material juvenil para a produção de mudas (Bitencourt, 2008). Tais brotações podem ser obtidas por meio de podas mais ou menos drásticas, desde a decepa ou corte dos ramos maiores e mais vigorosos para reduzir o porte das plantas até a remoção de apenas os ponteiros dos ramos (De Souza; Bleicher, 2002). Segundo Medrado *et al.* (2002), a recuperação de ervais degradados pode ser realizada por meio de decepa total das árvores cuja produtividade está baixa e isto estimulará a formação de novas brotações, que serão vigorosas. Igualmente Santin *et al.* (2008) sugerem que a remoção de 70 % da copa de erveiras (*Ilex paraguariensis* St. Hill) debilitadas, juntamente com o anelamento a 20 cm de altura, demonstra ser uma técnica eficiente na indução de brotações de base.

No que se refere à propagação assexuada, ou vegetativa, os resultados obtidos até agora em *C. sylvestris* em estacas proveniente de planta adulta proporcionaram porcentagens de enraizamento e brotação baixas ou nulas (Imatomi, 2007; Cavallari, 2008).

Para a propagação vegetativa, é de fundamental importância a identificação de quais indivíduos ou órgãos se apresentam juvenis ou podem ser rejuvenescidos, por exemplo por meio de podas (Wendling; Xavier, 2001). Sendo assim, é recomendável a coleta de brotações jovens em plantas adultas, as quais, mesmo não caracterizando uma verdadeira condição de

juvenildade, têm mais facilidade de enraizamento (Fachinello *et al.*, 2005). A escolha do material ideal para o processo de clonagem visa evitar ou diminuir perdas relacionadas à inaptidão dos propágulos à propagação vegetativa, a formação de mudas com baixo vigor aéreo e radicial, o crescimento plagiotrópico, entre outras características indesejáveis (Wendling; Xavier 2001).

Mesmo em estacas oriundas de tecidos rejuvenescidos, a utilização de reguladores vegetais pode aumentar o potencial de enraizamento (Iritani; Soares, 1981).

O ácido indol-butírico (AIB), uma auxina sintética, é mais estável e menos solúvel que a auxina endógena, ácido indol acético (AIA), pois é fotoestável, de ação localizada, persistente, não tóxico em ampla gama de concentrações e não é atacado por ação biológica, e portanto, considerado um dos melhores estimuladores do enraizamento (Miranda *et al.*, 2004). Os cofatores de enraizamento são substâncias de ocorrência natural, tais como polifenóis e certos compostos fenólicos, como ácido caféico, catecol e ácido clorogênico, que interagem sinergisticamente com as auxinas induzindo a iniciação das raízes (Felzener *et al.*, 2008). Tais fatores são sintetizados nas gemas e folhas jovens e, em maior quantidade, em estacas provenientes de plantas jovens (Hartmann *et al.*; 2002; Taiz; Zeiger, 2004), dessa forma, é caracterizada a importância para muitas espécies a manutenção de folhas e gemas em atividade vegetativa, pois são responsáveis pela síntese de cofatores, auxinas e carboidratos (Fachinello *et al.*, 2005).

Os objetivos deste trabalho foram verificar a influência do rejuvenescimento por meio de decape e poda drástica e a aplicação da auxina sintética ácido indol butírico (AIB) em solução hidroalcoólica, no enraizamento de estacas caulinares *C. sylvestris* Swartz.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

As plantas matrizes foram selecionadas dentre as árvores nativas da Estação Experimental do Canguiri da UFPR, localizada em Pinhais, PR, Brasil (Figura 9). As coordenadas geográficas aproximadas do local de colheita são latitude 25° 23' 30,50" S e longitude 49° 8' 11,34" W. O solo é caracterizado como Cambissolo Háplico (Embrapa, 2003). O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é classificado como Cfb, mesotérmico úmido sem estação seca definida, com temperatura mínima média de 12,5 °C e temperatura máxima média de 22,5 °C, estando sujeito a geadas severas (mais de cinco por ano). A precipitação média anual da região é de 1400 a 1500 mm, sendo os meses de abril e maio os mais secos com média de 75 a 100 mm (Iapar, 1994).

As plantas apresentavam aproximadamente a mesma altura (2,5 - 3 m) e mesmo diâmetro do caule (10–12 cm), estando posicionadas alinhadas à beira da mata, permitindo roçadas periódicas. A decepa, que consistiu no corte das árvores em duas alturas, e as podas foram realizadas com serra manual. Os cortes foram protegidos com Fixotac, uma cola betuminosa para tacos de madeira, que forma uma película de grande aderência e resistente à umidade, para evitar a entrada de fungos. Os tratamentos (T) foram diferentes alturas de decepa e de poda, do caule (decepa) e ramos principais (Figura 9 A-B-C):

- T1: 30 cm (decepa);
- T2: 120 cm (decepa);
- T3: ramos de 2,5–3 cm de diâmetro, cortes praticados a 35 cm do ramo principal (poda).

As decepadas das árvores de *C. sylvestris* foram realizadas no dia 22 de abril de 2009, as podas dos ramos no dia 9 de junho de 2009, de modo que as brotações quando colhidas, apresentavam seis meses (decepadas) e quatro meses e meio de idade (ramos) (Figura 9 D-E-F). Os ramos podados foram aqueles situados na posição mais baixa da copa, para minimizar os efeitos da idade ontogenética. Após o corte, as cepas foram devidamente marcadas com estacas de madeira e os ramos podados foram identificados amarrando fitas na proximidade do corte.

A coleta de *C. sylvestris* foi realizada em outubro de 2009 (19/10/2009) quando as brotações basais dos caules apresentavam um comprimento médio de cerca de 50 cm e as dos ramos de cerca de 30-40 cm. As plantas não apresentavam ainda botões florais. As estacas

semilenhosas foram confeccionadas com cerca de 12 cm de comprimento e duas folhas com sua área reduzida à metade, corte em bisel na base e reto no ápice, os diâmetros médios das estacas foram medidos com paquímetro digital, variando entre 2,5-3 mm.

Em cada tipologia de estaca (T1, T2 e T3) foram aplicados três tratamentos com soluções hidroalcoólicas (50% v/v) de AIB nas concentrações de 0, 1500 e 3000 mg L⁻¹, por 10 segundos. O plantio foi realizado em tubetes de 53 cm³ contendo Plantmax HT® e Vermiculita®, na proporção 1:1, como substrato (Figura 10A).

O experimento foi conduzido em um fatorial 3 x 3 (três tipos de estaca e três concentrações de AIB), em delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições de 16 estacas. As estacas foram mantidas em casa de vegetação com irrigação intermitente, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, UFPR, Curitiba, PR, com o seguinte tempo de rega: 15 segundos a intervalos de 15 minutos, das 8h às 17h; 15 segundos de rega a cada hora, das 17h às 23h e 15 segundos de rega a cada 3 horas, das 23h às 8h.

Aos 6 meses após o plantio, foram avaliadas as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas (estacas que apresentavam pelo menos uma raiz, com e sem presença de calos); porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos); porcentagem de estacas que apresentavam brotações apicais; porcentagem de estacas mortas (com necrose em toda ou na maior parte de sua extensão), número de raízes por estaca e comprimento das três maiores raízes formadas por estaca (cm), número de folhas retidas e massa seca das raízes (g).

Para testar a homogeneidade das variâncias utilizou-se o Teste de Bartlett e para a comparação de médias, os dados foram submetidos ao Teste Tukey a 5% de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa ASSISTAT, versão 7.5 beta (Silva; Azevedo, 2009).



Figura 9 - Estaquia de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*. A - Decepta a 30 cm do solo. B - Plantas para decepta a 120 cm do solo. C - Plantas para poda de copa. D - Brotações de decepta a 30 cm do solo. E - Brotações de decepta a 120 cm do solo. F - Brotações de poda de copa.

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A discussão dos resultados do enraizamento das estacas foi realizada por variável. O teste de comparação de médias foi aplicado para a variável porcentagem de estacas com calos e não enraizadas utilizando apenas as médias dos resultados dos três tipos de estacas, uma vez que os tratamentos com AIB não diferiram entre si significativamente.

7.3.1 Porcentagem de estacas enraizadas

A porcentagem de enraizamento foi maior nas estacas provenientes da brotação obtida a partir das decepas de 30 cm e 120 cm na concentração de 1500 mg L⁻¹ de AIB (91,69% nos dois casos), e das decepas de 30 cm e dos ramos podados, sem a aplicação do AIB (81,25% e 95,81% respectivamente) (Tabela 10).

Tabela 10 - Porcentagem de estacas enraizadas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), avaliadas aos 180 dias.

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepta 30cm	81,25 aA	91,69 aA	57,31 aB	76,75
Decepta 120cm	44,81 bB	91,69 aA	54,19 aB	63,65
Poda ramos	95,81 aA	66,69 bB	35,44 bC	65,98
Médias	73,96	83,36	48,98	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Para todos os tipos de poda, a aplicação de AIB na dosagem de 3000 mg L⁻¹ resultou em diminuição das porcentagens de enraizamento (Tabela 10). Tais resultados em parte concordam com Bhusal *et al.* (2003) em estacas de trifoliata (*Poncirus trifoliata* L.) retiradas de brotações juvenis do ano de plantas de 1 a 25 anos de idade. O percentual de enraizamento após 45 dias e sem aplicação de regulador vegetal desceu de 100% em estacas de plantas de 1 e 2 anos, até 23% para matrizes de 5 anos e 0 após 45 e 90 dias em estacas coletadas de plantas de 15 e 25 anos. Da mesma forma estacas juvenis de brotações de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) se mostraram mais eficientes na formação de raízes adventícias (47%), quando comparadas com as estacas retiradas de plantas com idade biológica adulta (15 anos), sendo que o tipo de estaca não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas (Costa

Bastos *et al.*, 2009). Inuoe e Putton (2007), testando o potencial de enraizamento de brotações do ano a epicórmicas basais, de 12 espécies florestais da Floresta Ombrófila mista do Estado do Paraná, determinaram que a *Casearia decandra*, junto com outras espécies, apresenta uma propensão natural, sem aplicação de regulador vegetal, ao enraizamento.

Por outro lado, Rosier *et al.*(2006) relatam que em abeto (*Abies fraseri* [Pursh] Poir.) o percentual de enraizamento aumenta com a severidade da decepta e a diminuição da idade da planta matriz. A aplicação de regulador vegetal (no caso 4 mM de AIB) foi significativa só em plantas de 5 a 7 anos de idade, enquanto estacas de deceptas de plantas de 3 anos de idade enraizam igualmente com (51%) ou sem (50%) AIB. Husen e Pal (2006) estudando o enraizamento de estacas semilenhosas de teca (*Tectona grandis* Linn.) obtidas de brotações de deceptas de 30 cm, subdivididas segundo a posição de origem (basal, mediana e apical) e tratadas com diferentes concentrações de AIB concluíram que a posição mediana na concentração de 4000 mg L⁻¹ de AIB é a ótima para a obtenção do melhor enraizamento e produção de brotações em teca.

No presente trabalho, porém, foi feita uma distinção entre a posição de origem das brotações na planta mãe, sendo todas as estacas utilizadas de tipo mediano. Contrariamente ao esperado, ótimos resultados foram obtidos a partir de brotações de poda do ano em ramos externos da copa e sem aplicação de AIB, o que indica um bom nível de rejuvenescimento dos tecidos vegetais. A poda de ramos resulta deste modo preferível à decepta, permitindo a conservação das plantas matrizes e sendo também menos trabalhosa em termos de mão de obra.

Tal achado, porém, contrasta com os segundos melhores resultados obtidos das brotações das deceptas de 30 e 120 cm e aplicação de regulador vegetal na concentração de 1500 mg L⁻¹, sendo estes os resultados mais lógicos e concordantes com a bibliografia. No entanto, a capacidade de enraizamento de brotações apicais pode ser aumentada com a remoção das brotações basais (Leakey, 2004) e no presente estudo as matrizes das quais foram retiradas as brotações dos ramos utilizadas não apresentavam brotações basais que pudessem concorrer com as apicais.

Kibbler *et al.* (2004) realizaram vários ensaios com a lenhosa nativa australiana *Backhousia citriodora* F. Muell (Myrtaceae), espécie com alto valor comercial pelo óleo essencial e recalcitrante ao enraizamento. O objetivo de um dos experimentos foi comprovar que o enraizamento foi influenciado pela juvenilidade do material e não pela posição na planta mãe. Para tal fim foram coletadas estacas de ramos semilenhosos da copa (2 m de altura), de brotações de gemas epicórmicas da base do tronco e um segundo grupo de estacas

juvenis foi coletado de brotações de estacas da mesma planta matriz, assim como estacas de plantas adultas enraizadas o ano anterior e regularmente podadas a 20 cm, todas tratadas com 4000 mg L⁻¹ AIB em imersão rápida. Os dois tipos de estacas juvenis enraizaram mais rapidamente do que estacas maduras e não houve diferença entre as estacas coletadas da base e aquelas coletadas da copa da planta matriz, levando à conclusão que o enraizamento depende da juvenilidade do material e não da posição do ramo.

Negash (2004) estudou o enraizamento de estacas herbáceas obtidas de brotações de decepadas de 20, 25, 80 e 120 cm e de ramos adultos de exemplares de diferentes idades de oliveira (*Olea europaea* L. subsp. *cuspidata*), tratadas com 10 µl de AIB na base de cada estaca por imersão rápida, com concentrações variando de 0,10 a 0,35% de AIB. Estacas de decepadas de 25 cm de alturas de árvores de 4 e 6 anos proporcionaram 90% de enraizamento, com ajuda do regulador vegetal. Na medida em que as brotações se afastavam do colo do tronco (80, 120 e ramos), em árvores de 4 anos, os percentuais de enraizamento diminuíram drasticamente (20%, 14% e 11% respectivamente), o que resulta com o encontrado no presente trabalho.

Estacas de brotações epicórmicas de carvalho do canyon (*Quercus chrysolepis* Leibem), espécie de difícil enraizamento, obtiveram promissores percentuais de enraizamento durante a primavera e com concentrações de 2500 e 5000 L⁻¹ de AIB (19% e 23% respectivamente) comparados com estacas de ramos inseridos até 3 m de altura nas plantas selecionadas para o estudo (Zagory *et al.*, 2002).

O percentual de enraizamento de estacas obtidas a partir das brotações de decepta a 120 cm sem aplicação de regulador vegetal foi significativamente menor que os demais tipos de poda (Tabela 10). Tal resultado pode ser atribuído à diferente idade fisiológica dos tecidos do caule onde foram realizadas as decepadas: as gemas epicórmicas presentes na altura de 30 cm do colo da árvore, segundo a teoria do cone de juvenilidade, resultariam mais jovens fisiologicamente do que as gemas presentes ao redor dos 120 cm de altura; igualmente as estacas obtidas dos ramos superiores podados, seriam o resultado de brotações com menor idade ontológica e fisiológica do que a porção mediana do tronco, o que explicaria as elevadas porcentagens de enraizamento obtidas sem aplicação de AIB (95,81%).

Segundo Barbosa *et al.* (1990), a juvenilidade parece permanecer *in situ* mesmo em plantas adultas, pois, se forem submetidas a um corte drástico, abaixo de certo limite de transição, as novas brotações das gemas latentes novamente apresentarão as características juvenis. Isso deve justificar a teoria do "gradiente de juvenilidade", presente nos troncos, delimitando a planta em dois tecidos distintos; o juvenil e o adulto, dependendo da posição

efetiva do ramo coletado, a estaca derivada manterá o nível de maturidade ou juvenilidade possuído na planta matriz na forma de “memória fisiológica” (Assis; Mafia, 2007).

Segundo Olesen (1978) o processo de maturidade nas árvores se encontra sempre desigualmente distribuído e diretamente relacionado com o crescimento total por meio de cada meristema: os meristemas apicais, por ser o resultado de maior número de divisões celulares, terão nível mais avançado de maturidade em relação aos meristemas da base do tronco. Assim, propágulos mais próximos da base conservam uma maior juvenilidade em relação aos que se encontram nas posições mais apicais, como os brotos epicórmicos ao longo do caule, em consequência da sua formação ser mais próxima da época de germinação do que aquelas das regiões intermediárias ou apicais (Hartmann *et al.*, 2002). Portanto, os brotos de cepas possuem características juvenis que facilitam a recuperação da competência ao enraizamento, além da manifestação de todo o potencial genético da planta (Alfenas *et al.*, 2004).

Um dos problemas encontrados no presente ensaio, assim como em trabalhos anteriores, é a falta de brotações. Mesmo com a presença de 4 a 5 gemas axilares e a formação de um bom sistema radicial, nenhuma das estacas apresentou posterior desenvolvimento apical. Normalmente a remoção do ápice caulinar em geral resulta no crescimento de uma ou mais gemas laterais (de Souza, 2005). A gema apical promove o crescimento tanto pela da biossíntese direta da auxina quanto da biossíntese de giberelina, induzida por auxina. As citocininas, produzidas principalmente no meristema apical das raízes e nas partes aéreas das plantas como as folhas jovens, também modificam a dominância apical e promovem o crescimento de gemas laterais (Fachinello *et al.*, 2005). A baixa razão auxina/citocinina estimula a formação de parte aérea; conseqüentemente, as plantas superprodutoras de citocininas tendem a ter mais ramificações (Taiz; Zeiger, 2004).

As citocininas podem se acumular nos tecidos sem apresentar atividade hormonal, além disso, muitos tecidos vegetais possuem a enzima citocinina oxidase, a qual inativa irreversivelmente as citocininas sendo também uma enzima induzida por altas concentrações de citocinina agindo na regulação ou limitação dos efeitos da mesma (Alvarenga *et al.*; 2004).

A superexpressão da citocinina oxidase resulta na redução dos níveis endógenos de citocinina, portanto, acarreta redução na taxa de proliferação celular no meristema apical da parte aérea. Por outro lado, leva a uma intensificação do crescimento das raízes, sobretudo pelo aumento do tamanho do meristema apical (Taiz; Zeiger 2004)

Uma explicação pode ser o estado fenológico das plantas matrizes das quais foram retiradas as estacas, uma vez que a planta atinge um desenvolvimento apto à produção, o

período desfavorável ao crescimento vegetativo pode induzir a gema apical à diferenciação floral, passando a exercer forte dominância, impedindo o desenvolvimento das demais gemas (Kavati, 2004).

Outro fator possivelmente relacionado com a falta de brotações aéreas em estacas de *C. sylvestris* é o diâmetro das estacas utilizadas. Estacas lenhosas da mesma espécie com diâmetro médio de 1 cm, mostraram ausência de enraizamento, mas várias brotações (dados não mostrados). Tal suposição concorda com Hartmann *et al.* (2002), que afirmam que o diâmetro ótimo das estacas para obter boas brotações pode variar de 0,5 a 2,5 cm, e até 5 cm dependendo da espécie. Hoppe *et al.* (1999), também observaram que o parâmetro diâmetro de estacas influencia no desenvolvimento em alturas das brotações de *Platanus x acerifolia* e estacas com diâmetros entre 1 e 2 cm, são as mais indicadas para a produção de mudas de tal espécie.

Fachinello *et al.* (2005) atestam que as estacas de maior diâmetro apresentam maiores níveis de reservas que favorecem o enraizamento, mas, por outro lado, podem também apresentar altas taxas de brotações desfavorecendo o enraizamento. Estacas com maior diâmetro de pessegueiro cv. Okinawa (*Prunus persica* L. Batsch.) apresentaram maior percentual de brotação devido talvez à maior disponibilidade de reservas, favorecendo a emissão dos brotos (Tofanelli *et al.*, 2003). Tais afirmações poderiam explicar o ótimo enraizamento das estacas juvenis de *C. sylvestris* utilizadas no presente trabalho, cujo diâmetro era de 2,5-3 mm e talvez sem o nível de reservas ou hormônios suficiente para a indução de brotações aéreas.

7.3.2 Número médio de raízes por estaca

Por meio dos resultados da análise de variância, verificou-se que houve interação entre os fatores tipo de poda e concentração do regulador vegetal, para número médio de raízes, demonstrando que os mesmos não são independentes. Para as estacas provenientes de brotações de decepta de 30 cm, o número médio de raízes foi significativamente maior nos tratamentos testemunha e na concentração de 1500 mg L⁻¹ de AIB (7,03 e 8,60, respectivamente) (Tabela 11) (Figura 10 D). Estacas coletadas de brotações de decepta de 120 cm apresentaram maior número de raízes somente quando tratadas com 1500 mg L⁻¹ de AIB (7,57) (Figura 10 B), estacas coletadas de ramos podados, sem a aplicação do AIB (8,42),

emitiram número significativamente maior de raízes adventícias, quando comparadas com os tratamentos com regulador vegetal (Tabela 11).

Tabela 11 - Número de raízes por estaca de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepta 30 cm	7,03 aA	8,60 aA	2,58 aB	6,07
Decepta 120 cm	2,46 bB	7,57 aA	2,94 aB	4,32
Poda ramos	8,42 aA	4,05 bB	1,81 aC	4,63
Médias	5,84	6,74	2,44	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Para todos os tipos de poda a aplicação de AIB na dosagem de 3000 mg L⁻¹ resultou em diminuição importante do número de raízes (Tabela 11). De acordo com a comparação de médias para as concentrações de regulador vegetal e os tipos de poda verificou-se que a concentração de 1500 mg L⁻¹ de AIB foi a que forneceu em média um maior número de raízes por estaca (6,74). Tal resultado contrasta com o obtido por Bitencourt (2009) trabalhando com estacas juvenis de brotações basais provenientes de decepta a 60 cm e adultas retiradas de brotações de copa de erva mate (*lex paraguariensis* St. Hill.).

A autora determinou que a interação entre as concentrações de AIB e os tipos de estacas não foi significativa, sendo que as estacas juvenis obtiveram maior porcentagem de enraizamento, assim como maior número de raízes e maior comprimento médio das três maiores raízes quando comparadas àquelas provenientes de brotações de copa. Da mesma forma em trabalho realizado com miniestaquia de erva-mate, Wendling *et al.* (2007) observaram um crescimento linear do número de raízes por estaca com o aumento da concentração de AIB, tanto para o material juvenil quanto para o adulto.

Em estacas juvenis de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) tratadas com AIB na concentração de 2.000 mg L⁻¹, houve a formação de 3,0 raízes por estaca, enquanto nas estacas adultas testadas no mesmo experimento nenhuma raiz foi formada (Bastos *et al.*, 2009). Estacas provenientes de deceptas, no presente trabalho, portanto, mais juvenis segundo a teoria do cone de juvenilidade (Hartmann *et al.*, 2002) apresentaram um melhor enraizamento e um maior número de raízes. Da mesma forma, com o aumento da idade de

mudas obtidas de semente de diferentes espécies de abacate (*Persea americana* Mill.) o número de raízes em estacas retiradas das mesmas diminui, passando de 16,1 para mudas de 53 dias de idade, até 1,9 raízes por estaca das mesmas mudas com 163 dias de idade (Raviv *et al.*, 1987).

As estacas de *C. sylvestris* que foram coletadas durante a primavera e encontravam-se em pleno crescimento, apresentando tecidos pouco lignificados, condição que possivelmente possibilitou a formação de maior número de raízes. A época de coleta das estacas exerce influência no número de raízes emitidas por estaca, pois quando são coletadas em períodos de intenso crescimento vegetativo possuem consistência mais herbácea, e, por isso, demonstram maior capacidade de enraizamento (Fachinello *et al.*, 2005).

7.3.3 Comprimento médio das três maiores raízes por estaca

Os resultados da análise de variância revelaram interação entre os fatores tipo de poda e concentração de AIB, para comprimento médio de raízes em estacas de *C. sylvestris*, demonstrando que os mesmos não são independentes. Os melhores resultados para comprimento médio das raízes foram obtidos em estacas oriundas de brotações de copa e de corte a 30 cm sem AIB, sem diferir significativamente de estacas coletadas de brotações de decepta a 30 cm, com aplicação de AIB na concentração de 1500 mg L⁻¹ (5,05 cm, 3,94 cm e 3,86 cm, respectivamente) (Tabela 12). Tal resultado indica que o regulador vegetal não influenciou a variável comprimento de raízes, com exceção da maior concentração testada, 3000 mg L⁻¹ que, mais uma vez, revelou ser excessiva para estacas rejuvenescidas de *C. sylvestris* para todos os tipos de poda testados (Tabela 12).

O comprimento das raízes de estacas de brotações de ramos adultos diminuiu gradativamente pelo aumento das concentrações de AIB, resultados que diferem com as respostas obtidas com os outros dois fatores testados, corte a 30 e 120 cm, mas concorda com os resultados obtidos em estacas de brotações do ano de *Platanus acerifolia* Ait. (Nicoloso *et al.* 1999).

As raízes de estacas de deceptas de 120 cm alongaram mais após o tratamento com 1500 mg L⁻¹ de AIB (3,24 cm) sendo o comprimento de 1,89 cm para a testemunha e de 1,32 cm para a concentração de 3000 mg L⁻¹ de AIB. Tal resultado concorda com o andamento das respostas de estacas de deceptas de 120 cm à aplicação de AIB para as outras variáveis analisadas.

Tabela 12 - Comprimento médio em cm das três maiores raízes de estacas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepta 30 cm	3,94 aA	3,86 aA	1,86 aB	3,22
Decepta 120 cm	1,89 bB	3,24 abA	1,32 aB	2,15
Poda ramos	5,05 aA	2,29 bB	1,14 aB	2,83
Médias	3,62	3,13	1,44	

Médias seguidas da mesma letra minúscula, na vertical, e maiúscula, na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos contrastam com aqueles observados em estacas de ramos jovens de erva mate (*Ilex paraguariensis* Saint'Hilaire) cuja aplicação de AIB aumentou o comprimento das raízes formadas, com os melhores resultados obtidos nas concentrações de 4000 e 8000 mg L⁻¹ de AIB respectivamente (Horbach, 2008).

Por outro lado, para Cavalcante (2008) em estacas de pitaya vermelha (*Hylocereus undatus*) o comprimento radicial foi significativamente influenciado pela porção da planta de retirada das estacas, sendo que estacas juvenis promoveram raízes mais longas, quase 87% maiores que as maduras, evidenciando a juvenilidade no dossel da planta de pitaya. Tais resultados concordam com o observado no presente experimento.

É importante salientar que para a produção de mudas a porcentagem de enraizamento das estacas é de extrema importância. Entretanto, a qualidade do sistema radicial é determinante para a sobrevivência da muda, sendo verificada pela presença de raízes numerosas e desenvolvidas (Lima, 2008). Mudas com sistema radicial restrito, quando transplantadas para o campo, têm dificuldade de compensar a evapotranspiração, mesmo se bem irrigadas após o transplante (Wien, 1997).

7.3.4 Massa seca das raízes

A análise de variância demonstrou interação significativa entre os fatores tipo de poda e concentração de AIB, para a variável massa seca de raízes por estaca. Como para a variável comprimento médio das três maiores raízes por estaca, os melhores resultados correspondem às estacas obtidas com a poda de ramos da copa sem AIB, com 4,64 mg de massa seca por

estaca, seguidos pelas estacas oriundas das duas decepas, a 30 e 120 cm com 1500 mg L⁻¹ de AIB, as quais apresentaram massas secas de 3,59 mg e 3,71 mg respectivamente (Tabela 13).

Tabela 13 - Massa seca das raízes de estacas de brotações de decepa e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepa 30 cm	2,99 bA	3,59 aA	1,73 aB	2,77
Decepa 120 cm	1,10 cB	3,71 aA	1,22 aB	2,01
Poda ramos	4,64 aA	2,48 aB	1,13 aC	2,75
Médias	2,91	3,26	1,36	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

É interessante evidenciar como para as estacas derivadas das brotações de decepas a 30 e 120 cm de altura, a variável massa seca apresentou a menor massa sem AIB, aumentando com 1500 mg L⁻¹ e diminuindo, conforme quanto já descrito, quando tratada com 3000 mgL⁻¹ do regulador vegetal (Tabela 13).

Resultados semelhantes foram obtidos em aceroleira (*Malpighia glabra* L.) por Gontijo *et al.* (2003), cuja massa seca das raízes das estacas teve o mesmo comportamento que no presente trabalho, nas concentrações de 1600, 2000 e 2400 mg L⁻¹.

Contrariamente a resposta em termos de massa seca das estacas obtidas de brotações de ramos, apresentam mais uma vez, uma resposta decrescente à aplicação do regulador vegetal, passando de 4,64 com 0 mg L⁻¹ de AIB, a 2,48 mg e 1,13 mg com 1500 e 3000 mg L⁻¹, respectivamente. O regulador vegetal, portanto, não ajudou no desenvolvimento radicial talvez porque conforme Blakesley *et al.* (1991), a ação da auxina ocorre pouco antes do primeiro evento de formação do primórdio radicial (desdiferenciação celular e formação de um locus meristemático), demonstrando que ela atua na indução da formação de raízes e não no seu posterior desenvolvimento.

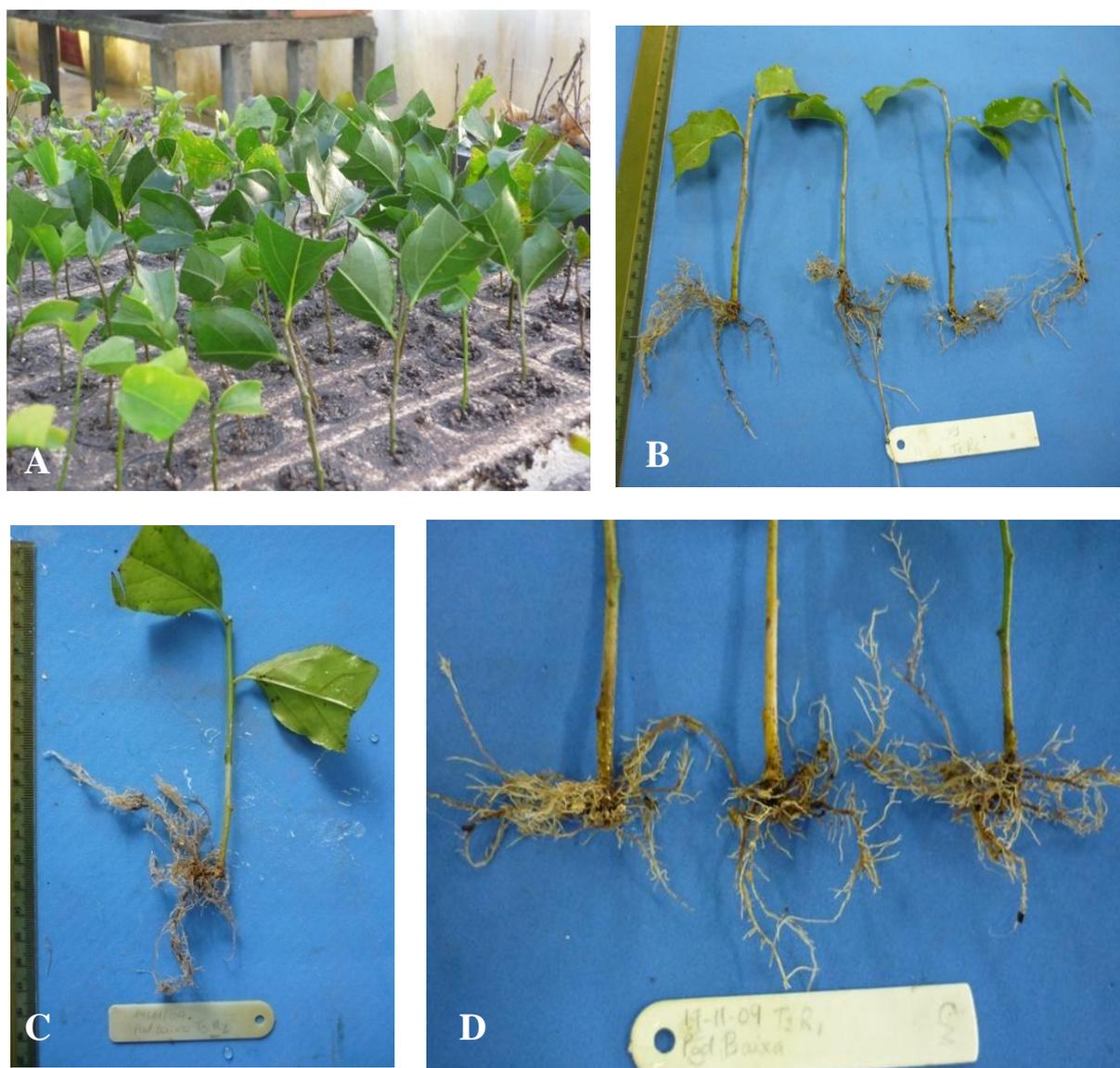


Figura 10 - Estaquia de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*. A - Detalhe de estacas plantadas em tubetes e mantidas em casa de vegetação. B - Estacas de brotações de decepta a 120 cm enraizadas com 1500 mg L^{-1} de AIB. C - Estaca obtida de brotações de poda de copa, enraizada sem AIB. D - Detalhe de estacas de brotações de decepta a 30 cm enraizadas com 1500 mg L^{-1} de AIB.

7.3.5 Porcentagem de folhas retidas

Por meio dos resultados da análise de variância, se verificou que houve interação entre os fatores tipo de poda e concentração do regulador vegetal, para número médio de folhas retidas, demonstrando que os mesmos não são independentes.

As diferenças entre todos os tratamentos foram mínimas, porém, o maior número de folhas retidas correspondeu às estacas obtidas de decepas de 120 cm tratadas com 1500 mg L^{-1} de AIB (84,38%) (Tabela 14). Estacas obtidas de decepas de 30 cm não apresentaram diferenças significativas às concentrações de AIB aplicadas (Tabela 14), retendo em média

65,09% das 32 folhas presentes no momento da instalação do experimento. No caso de estacas derivadas de brotações de decepas de 120 cm o regulador vegetal se mostrou eficaz na retenção foliar aumentando o número de folhas retidas de 53,56% (testemunha) a 84,38% (1500 mg L⁻¹ AIB) (Tabela 14). Já a concentração de 3000 mg L⁻¹ reduziu a retenção foliar não diferindo da testemunha.

Em estacas herbáceas de figueira oriundas de brotações de poda, observou-se, sem aplicação de regulador vegetal, um total de 87,5% de enraizamento para estacas com um par de folhas e 98,7% para estacas com dois pares de folhas não diferindo entre si (Pio *et al.*, 2004). A presença de folhas no enraizamento de estacas influencia o processo de formação radicial, auxiliando no transporte de substâncias promotoras de enraizamento e promovendo a perda de água por transpiração (Costa Júnior, 2000). As folhas adultas servem como órgão de assimilação e reserva de carboidratos, os quais são cruciais para o sucesso do enraizamento. A preservação das folhas garante a sobrevivência das estacas, tanto pela síntese de carboidratos através da fotossíntese, como pelo fornecimento de auxinas e outras substâncias denominadas co-fatores de enraizamento, estimulando a atividade de troca e a diferenciação celular (Hartmann *et al.*, 2002; Ono; Rodrigues, 1996).

Tanto Biasi *et al.* (1997) como Bordin *et al.* (2005) constataram a fundamental importância da presença de folhas para o enraizamento das estacas semilenhosas de porta-enxertos de videira (*Vitis* spp.) IAC 766 e IAC 572.

Em estacas cujas folhas são retidas, a auxina endógena, produzida nas folhas e nas gemas, move-se naturalmente segundo um gradiente para a parte inferior do caule, aumentando a sua concentração na base, junto com os açúcares e outras substâncias nutritivas (Taiz; Zeiger, 2004).

Tabela 14 - Porcentagem de folhas retidas em estacas de brotações de decepa e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepa 30	72,91 aA	60,94 bA	61,47 aA	65,09
Decepa 120	53,56 bB	84,38 aA	68,75 aAB	68,94
Poda ramos	60,41 abAB	76,56 abA	54,16 aB	63,72
Médias	63,31	73,97	61,47	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

A manutenção das estacas com folhas e sob nebulização intermitente com água é indispensável na sobrevivência das estacas até a formação de raízes; contudo alguns cuidados devem ser tomados em vista da perda de nutrientes decorrente da lixiviação das folhas, quando estas são submetidas à nebulização por períodos prolongados (Poggiani; Suiter Filho, 1974). Os mesmos autores relatam que muitas estacas de eucalipto (*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden) apresentaram 50 dias após do plantio e após o tratamento por nebulização de solução nutritiva mineral foliar, numerosas brotações ao longo do caule sendo também que a solução nutritiva aumentou a sobrevivência e provocou o enraizamento de 31% das estacas. A nebulização de soluções nutritivas minerais poderia, no caso de estacas de *C. sylvestris*, contribuir na formação de brotações apicais.

7.3.6 Porcentagem de estacas vivas sem raízes e com calos

A análise de variância não demonstrou interação significativa entre os fatores tipo de poda e concentração de AIB para porcentagem de estacas vivas sem raízes e com calos, se constatando a independência entre os fatores (Tabela 15). De acordo com a comparação de médias para os tipos de poda e concentrações de regulador vegetal, as estacas tratadas com 3000 mg L⁻¹ de AIB apresentaram uma maior porcentagem de calos (8%) não havendo diferenças significativas entre as estacas derivadas das brotações de decepta e de poda (Tabela 15).

Tabela 15 - Porcentagem Porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com calos) de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepta 30 cm	4,19	0	9,38	4,52 A
Decepta 120 cm	4,19	2,06	4,19	3,48 A
Poda ramos	0	8,31	10,44	6,25 A
Médias	2,79 b	3,46 ab	8,00 a	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Não houve estacas sem raízes para as estacas de deceptas a 30 cm tratadas com 1500 mg L⁻¹ de AIB e para estacas de brotações de podas de ramos sem AIB (Tabela 15). Para estas

últimas a porcentagem de estacas sem raíz e com calo aumentou com o aumento da concentração de AIB (Tabela 15). Resultados semelhantes foram obtidos por Rossal e Kersten (1997) em estacas de laranjeira cv. Valência (*Citrus sinensis* L. Osbeck), os quais relataram que houve um aumento linear crescente a formação de calos nas concentrações 0 a 6000 mg L⁻¹ de AIB. A formação do calo demonstra um equilíbrio entre auxinas e citocininas endógenas (Hartmann *et al.*, 2002). No presente experimento, a aplicação externa do regulador vegetal não modificou este equilíbrio. O aumento na concentração de AIB aumentou o percentual de estacas com calo (Tabela 15) e reduziu o enraizamento (Tabela 10).

Os processos de formação de calos e de raízes adventícias são fenômenos independentes, embora ambos envolvam divisão celular e sejam influenciados pelos mesmos fatores, podendo ocorrer simultaneamente (Hartmann *et al.*, 2002). Em algumas espécies de difícil enraizamento, a formação de raízes se dá sobre o calo, embora a formação do calo não seja prenúncio seguro da formação de raízes adventícias (Hartmann *et al.*, 2002; Fachinello *et al.*, 2005).

7.3.7 Porcentagem de estacas vivas sem raízes e sem calos

A análise de variância demonstrou interação entre os fatores tipo de poda e concentração de AIB para estacas vivas sem raízes e sem calos demonstrando que os fatores não são independentes (Tabela 16).

Tabela 16 - Porcentagem de estacas vivas (sem raízes e sem calos), de brotações de decepta e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepta 30 cm	7,31 bA	1,06 bA	8,31 bA	5,50
Decepta 120 cm	27,06 aA	3,13 bB	22,94 aA	17,69
Poda ramos	4,19 bB	14,56 aA	14,56 abA	11,13
Médias	12,88	6,25	15,25	

Médias seguidas da mesma letra minúscula, na vertical, e maiúscula na, horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

A maior porcentagem de estacas sem calos e não enraizadas foi de 27,06%, correspondente às estacas obtidas de brotações de deceptas a 120 cm com 0 mg L⁻¹ de AIB

(Tabela 16). Não houve diferenças significativas à aplicação de regulador vegetal para o fator relativo às brotações de decepas a 30 cm (Tabela 16). Para as estacas de brotações de 120 cm a concentração de AIB 1500 mg L⁻¹ reduziu sensivelmente o percentual de estacas sem calo e sem raíz (3,13%) sendo que a concentração 3000 mg L⁻¹ de AIB aumentou notavelmente o percentual, chegando a 22,94% de estacas sem calos e sem raízes (Tabela 15). Já Barbosa *et al.* (2007) em estacas de pereira “Limeira” híbrida (*Pyrus pirifolia* (Burm.f). Nakai x *Pyrus communis* L.) tiveram os mesmos resultados, sendo a concentração 2000 mg L⁻¹ de AIB a que apresentou menor percentual de estacas vivas sem calos e sem raízes aumentando quando comparada com as restantes concentrações (0, 4000 e 6000 mg L⁻¹ de AIB).

Segundo Hackett (1988) estacas de material mais jovem, geralmente apresentam os maiores percentuais de sobrevivência. Isto porque são mais vigorosas, possibilitando a permanência das estacas por mais tempo no leito de enraizamento, mesmo sem a formação de raízes ou calos.

A presença de estacas vivas sem calos e não enraizadas poderia indicar que houve um atraso no enraizamento das estacas, ou ainda, que a permanência por mais tempo no leito de enraizamento poderia resultar em indução do enraizamento, como sugerido por Lima *et al.* (2006).

7.3.8 Porcentagem de estacas mortas

A análise de variância revelou interação entre os fatores tipo de poda e concentração de AIB para a variável relativa à porcentagem de estacas mortas, demonstrando a dependência entre os fatores (Tabela 17).

Tabela 17 - Porcentagem de estacas mortas de brotações de decepa e de poda de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.

Tipos de Poda	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)			Médias
	0	1500	3000	
Decepa 30 cm	10,44 bB	10,44 aB	25,00 abA	15,29
Decepa 120cm	23,94 aA	6,25 aB	18,75 bAB	16,11
Poda ramos	0 bB	10,44 aB	39,56 aA	16,66
Médias	11,46	9,04	27,77	

Médias seguidas da mesma letra minúscula, na vertical, e maiúscula, na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Para a variável mortalidade os maiores percentuais foram observados em estacas de brotações de copa tratadas com 3000 mg L^{-1} de AIB que tiveram 39,56% de estacas mortas e em estacas oriundas de decepa de 120 cm e não tratadas com AIB (23,94%) (Tabela 17). De acordo com a comparação de médias para os tipos de poda e concentrações de regulador vegetal se verificou diferença significativa, sendo que estacas tratadas com a concentração de AIB mais elevada apresentaram a maior porcentagem de mortalidade (Tabela 17).

7.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, foi possível concluir que:

Estacas de *C. sylvestris* derivadas de brotações de ramos de plantas matrizes adultas não apresentaram estímulo ao enraizamento em decorrência da aplicação de AIB até a concentração de 3000 mg L⁻¹, apresentando o 95,81% de enraizamento sem uso de regulador vegetal.

Estacas de *C. sylvestris* obtidas de brotações surgidas de brotações de decepta de 30 e 120 cm apresentaram estímulo ao enraizamento em decorrência da aplicação de AIB até a concentração de 1500 mg L⁻¹.

Não ocorreram brotações nas estacas avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. **Atividade antiinflamatória e antitumoral do extrato hidroalcolico de *Casearia sylvestris*: estudo comparativo com os antiinflamatórios piroxicam e meloxicam.** 1999. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1999.
- ALVARENGA, A. A. DE ; CLEMENTE FILHA, A. C. ; MAGALHÃES, M. M. Citocininas. In: **Fitohormônios e Fitoreguladores.** 1 ed. Lavras: EDUFLA, , v. 1, p. 27-32. 2004.
- ASSIS, T. F. DE; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. (Org.). **Biotecnologia florestal,** Viçosa: UFV, cap. 5, 2007. p. 93-121.
- BARBOSA, W.; PIO, R.; FELDBERG, N. P.; CHAGAS, E. A.; VEIGA, R. F. A. Enraizamento de estacas lenhosas de pereira tratadas com AIB e mantidas em ambiente de estufa tipo B.O.D. e de telado. **Revista Brasileira de Fruticultura,** v. 29, n. 3, p. 589-594. 2007.
- BARBOSA, W.; CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; OJIMA, M.; SAMPAIO, V.R.; BANDEL, G. **Ecofisiologia do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo do pessegueiro em região subtropical.** Campinas: Instituto Agronômico, 1990. 37p.
- BASILE, A.C; SERTIE, J. A. A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C.A. pharmacological assey of *Casearia sylvestris*. I. Preventive antiulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethnopharmacology,** v. 30, n. 2, p. 185-197, 1990.
- BASTOS, D. C.; SCARPARE FILHO, J. A.; FATINANSI, J. C.; PIO, R. Influência da idade biológica da planta matriz e do tipo de estaca caulinar de caramboleira na formação de raízes adventícias. **Ciência Agrotecnica,** v.33, ed. especial, p.1915-1918. 2009.
- BETANIN, L. **Fenologia, frutificação e propagação por estaquia da corticeira-da-serra (*Erythrina falcata* Benth.).** 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, 2008.
- BHUSAL, R. C.; MIZUTANI, F.; RUTTO, K. L. Effects of juvenility on the rooting of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf.) stem cuttings. **Journal of Japanese Society for Horticultural Science,** v. 72, p. 43-45, 2003.
- BIASI, L.A.; POMMER, C. V.; PINO, P. A. G. S. Propagação de porta enxertos de videira mediante estaquia lenhosa. **Bragantia,** Campinas, v. 56, n. 2, p.1-14, 1997.
- BITENCURT, J. De. **Otimização do enraizamento de estacas de plantas adultas de erva-mate.** 2008. 162 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- BLAKESLEY, D.; WESTON, G. D.; HALL, J. F. The role of endogenous auxin in root initiation. **Plant Growth Regulation,** v. 10, p. 341-353, 1991.

BORDIN, I.; HIDALGO, P. C.; BÜRKLE, R.; ROBERTO, S. R. Efeito da presença da folha no enraizamento de estacas semilenhosas de porta-enxertos de videira. **Ciência Rural**, v. 35, n.1, p. 215-218, 2005.

BORDIN, I.; ROBERTO, S. R.; NEVES, C. S. V. J.; STENZEL, N. M. C.; FURLANETO, T. L. R. Enraizamento de estacas de acerola sob concentrações de ácido indol-butírico. **Semina**, v. 24, n. 2, p. 261-264, 2003.

BORTOLINI M. F. DOBIGNIES, A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R. Enraizamento de estacas caulinares de Kudzu. **Scientia Agrária**, v. 8, n. 2, p. 135-140, 2007.

BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIÉRREZ, J. M.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n.127, p. 21–30, 2000.

CAVALCANTE, I. H. L. **Pitaya: propagação e crescimento de plantas**. 2008. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

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

COSTA JÚNIOR, W. H. Da. **Enraizamento de estacas de goiabeira: influência de fatores fisiológicos e mesológicos**. 2000. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

De SOUZA, F. X. **Crescimento e desenvolvimento de clones enxertados de cajazeira na chapada do Apodi, Ceará**. 2005. 80 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

DE SOUZA, F. X.; BLEICHER, E. Comportamento da cajazeira enxertada sobre umbuzeiro em Pacajus-Ce. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 24, n. 3, p.790-792, 2002.

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A. The vegetation of priority areas for cerrado conservation in São Paulo State, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 217-241, 2003.

EMBRAPA. Mapa da Série Brasil Geográfico, escala 1:5.000.000, IBGE, 2002; editada em 2003.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FELZENER, L. T.; BARREIRO, A. P.; ONO, E. O.; BARROS-CARDOSO, S. A.; RODRIGUES, J. D. Efeitos de reguladores vegetais no enraizamento de estacas caulinares de *Poncirus trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 2, 2008.

GONTIJO, T. C. A.; RAMOS, J. D.; MENDONÇA, V.; PIO, R.; NETO, S. E. A., CORRÊA, F. L. O. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 290-292, 2003.

HACKETT, W. P. Donnor plant maturation. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. (Ed.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, v.2, p.11-28. 1988.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HOPPE, J. M.; SCHUMACHER, M. V.; MIOLA, A. C.; OLIVEIRA, L. S. Influência do diâmetro de estacas no desenvolvimento dos brotos de *Platanus x acerifolia*. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 1, p. 25-28, 1999.

HORBACH, M. A. **Propagação in vitro e ex vitro de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire-Aquifoliaceae)**. 2008. 52 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2008.

HUSEN, A.; PAL, M. Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem cuttings in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). **New Forests**, v. 31, n. 1, 2006.

IAPAR. Cartas climáticas do Estado do Paraná. doc.18. Instituto Agrônomo do Paraná, Londrina. 1994.

IMATOMI, M. **Interferência de fatores bióticos e abióticos na propagação e conservação de *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae)**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

INOUE, M.T.; PUTTON, V. Macropropagação de 12 espécies arbóreas da Floresta ombrófila mista. **Floresta**, v. 37, n.1, p. 57-61, 2007.

IRITANI, C.; SOARES, R.V. Ação de reguladores de crescimento em estacas de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire. **Floresta**, v. 12, n. 2, p. 59-67, 1981.

KAVATI, R. **Manejo da parte aérea da mangueira**. 2004. Disponível em: <http://www.nutricaoeplantas.agr.br/site/ensino/pos/Palestras_William/Livromanga_pdf/09_manejodaparteaerea.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2010.

KIBBLER H.; JOHNSTON M. E.; WILLIAMS R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell. 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 102, p. 133-143, 2004.

LEAKEY, R. R. B. Physiology of vegetative reproduction. In: BURLEY, J.; EVANS, J.; YOUNGQUIST, J. A. (eds) **Encyclopaedia of Forest Sciences**. London: Academic Press, 2004. p. 1655–1668.

LIMA, D. M. **Propagação vegetativa de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reisse)**. 2008. 182 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LIMA, D. M. de; ALCÂNTARA, G. B. de; BORTOLINI, M. F.; FANTI, F. P.; BIASI, L. A.; QUOIRIN, M.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra selloi* e *Calliandra tweediei*. **Scientia Agraria**, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

LORENZI, H. **Arvores brasileiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992. p.115.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 4.ed., v. 1, 2002. p.131.,

MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J. C. T.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and v 79 cells by the comet assay. **Toxicology in vitro**, v. 18, p. 337-342, 2004.

MARQUETE, R.; VAZ, A. M. S. F. da. O gênero *Casearia* no estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, n. 58, v. 4, p. 705-738, 2007.

MEDRADO, M. J. S. DALZOTO, D. N.; OLIZESKI, A.; MOSELE, S. H. **Recuperação de ervais degradados**. Colombo: Embrapa Florestas, n. 86, 2002. 6 p.

MIRANDA, C. S.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; DUTRA, L. F.; COELHO, G. V. A. de. Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estacas lenhosas dos porta-enxertos de pessegueiro okinawa e umezeiro. **Ciência Agrotecnica Lavras**, v. 28, n. 4, p. 778-784, 2004.

NEGASH, L. Stump sprouts as sources of cutting production for the vegetative propagation of the threatened African wildolive (*Olea europaea* subsp. *cuspidata*). **South African Journal of Botany**, v. 70, n. 1, p.24-30, 2004.

NICOLOSO, F. T.; LAZZARI, M.; FORTUNATO, R. P. Propagação vegetativa de *Platanus acerifolia* Ait: (II) efeito da aplicação de zinco, boro e ácido indolbutírico no enraizamento de estacas. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, p. 487-492, 1999.

OLESEN, P. O. On cyclophysis and topophysis. **Silvae Genetica**, n. 27, p. 173-178, 1978.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Botucatu: Unesp/Funep, 1996. 83 p.

PIO, R.; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D.; GONTIJO, T. C. A.; TOLEDO, M.; CARRIJO, E. P. Presença de folhas e gema apical no enraizamento de estacas herbáceas de figueira oriundas da desbrota. **Revista Brasileira de Agrocência**, v. 10, n. 1, p. 51-54, 2004.

POGGIANI, F.; SUITER FILHO, W. Importância da nebulização intermitente e efeito do tratamento hormonal na formação de raízes em estacas de eucalipto. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, n.9, p.119-129, 1974.

RAVIV, M.; REUVENI, O.; GOLDSCHMIDT, E. E. The physiological basis for loss of rootability with age in avocado seedlings. **Tree Physiology**, n. 3, p. 115-122, 1987.

ROSA, S. G. T. da; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botânica Brasileira**, v. 15, n. 2, p. 147-154, 2001.

ROSIER, C. L., FRAMPTON, J., GOLDFARB, B., BLAZICH, F. A., WISE, F. C. Improving the rooting capacity of stem cuttings of Virginia pine by severe stumping of parent trees. **Southern Journal of Applied Forestry**, n. 30, v. 4. p. 172-181, 2006.

ROSSAL, P. A. L.; KERSTEN, E. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de laranjeira cv. Valencia (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) sob condições intermitentes de nebulização. **Scientia agricola**, v. 54, n.1-2, p. 9-13, 1997.

SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L., BRONDANI, G. E.; REISSMANN, C. B.; MORANDI, D., ROVEDA, L. F. Poda e anelamento em erva-mate (*Ilex paraguariensis*) visando à indução de brotações basais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 56, p. 97-104, 2008.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. **Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SLEUMER, H. O. **Flora Neotropica Monograph: Flacourtiaceae**. New York: The New York Botanical Garden, n. 22, 1980. 499 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, L. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TOFANELLI, M. B. D; RODRIGUEZ, J. D.; ONO, E. O. Enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro cv. Okinawa em diferentes diâmetros de ramos, substratos e recipientes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 3, p. 437- 442, 2003.

WENDLING, I.; DUTRA, L.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 187-194, 2001.

WIEN, H.C. **The physiology of vegetable crops**. Oxon: CABI Publishing, 1997. 662 p.

ZAGORY, E.; HACKETT, W.; TUCKER, J.; DEERING, R. Stock block establishment and manipulation to enhance rootability of superior forms of oaks for western gardens. **Progress Report**. University of California, Davis Arboretum. 2002. 8 p. Disponível em: <<http://slosson.ucdavis.edu/documents/2001-20022046.pdf>> Acesso em: 4 jul. 2010.

RESUMO

Casearia sylvestris Swartz (Salicaceae), ou guaçatonga, é uma planta medicinal nativa da América Central. A produção de mudas por meio da estaquia convencional tem resultado até o momento pouco viável. O uso da técnica de miniestaquia vem a ser uma alternativa para a propagação da espécie, uma vez que o material juvenil possui potencial endógeno favorável ao enraizamento. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a produtividade de brotações de minicepas originadas por via sexuada e estudar os efeitos da aplicação de ácido indolbutírico (AIB) em solução no enraizamento de miniestacas de *C. sylvestris* coletadas em diferentes meses do ano. Miniestacas apicais foram coletadas nos meses de dezembro/2009, janeiro/2010 e abril/2010, a partir de brotações de minicepas mantidas em casa de vegetação. As miniestacas foram submetidas a tratamentos em soluções hidroalcoólicas (50% v/v) contendo diferentes concentrações de AIB (0, 1000, 2000 e 3000 mg L⁻¹), por 10 segundos. Aos 90 dias após o plantio foram avaliadas as variáveis: porcentagem de miniestacas enraizadas, porcentagem de miniestacas vivas (sem raízes e com ou sem calos), número e comprimento médio (cm) de raízes por miniestaca, massa seca das raízes (g), número de folhas por miniestaca, porcentagem de miniestacas brotadas e porcentagem de miniestacas mortas. A análise estatística revelou a maior média de produtividade de brotações por minicepa ocorreu no mês de abril/2010 (2,90). As maiores porcentagens de enraizamento foram obtidas para estacas coletadas no mês de dezembro/2009, com porcentagem média de 97,27%. Dezembro foi também o mês que apresentou, de forma geral, miniestacas com melhor qualidade e uniformidade do sistema radicial (4,88 raízes e comprimento médio de 1,85cm). Conclui-se que a propagação vegetativa de *C. sylvestris* por meio de miniestaquia a partir de propágulos juvenis é viável e o mês mais favorável para a coleta de miniestacas é dezembro (verão). A aplicação de AIB não apresentou influência no enraizamento de miniestacas de *C. sylvestris* não sendo necessária para a formação de raízes em material juvenil coletado em todos os meses testados.

Palavras-chave: Minijardim clonal. AIB. Guaçatonga. Espécie medicinal.

ABSTRACT: MINICUTTING TECHNIQUE OF *Casearia sylvestris* Swartz

Casearia sylvestris (Salicaceae) is a native medicinal plant from Central and Southern America. Despite its commercial and medicinal relevance, seedling production by cuttings has yielded very poor results until now, since the species is considered recalcitrant. Nevertheless the use the endogenous rooting potential of juvenile material, through minicutting technique could represent a good propagation alternative for *C.sylvestris*. The work aimed to evaluate shoot production of *C. sylvestris* ministrains seed originated, and to verify the rooting response of its minicuttings to different dosages of the growth regulator indole butyric acid (IBA) Apical minicuttings were collected on December/2009, January and April/2010, from ministrains apical shoots. They were submitted to treatments in alcoholic solutions (50% v/v), containing different concentrations of IBA (0, 1000, 2000 and 3000 mg L⁻¹), by 10 seconds. Evaluations were conducted 90 days after planting, considering the following the variables: rooting percentage, number and mean length of roots per cutting, percentage of cuttings with callus, survival and necrosis. The statistical analysis showed higher mean shoot productivity by ministrains on April/2010 (2,90 shoots per minicutting). Higher percentages of rooting were obtained in minicuttings collected on December/2010, with mean percentage of 97,27%. The root system of minicuttings collected in December presented over alll better root quality and uniformity (4,88 roots per minicutting and mean length of 1,85 cm). Vegetative propagation of *C. sylvestris* by minicutting using juvenile material is feasible. The most favorable month for minicutting collection is December. The application of IBA has no influence on rooting by minicuttings of *C. sylvestris*.

Key words: Clonal minigarden. AIB. Guaçatonga. Medicinal species.

8.1 INTRODUÇÃO

Casearia sylvestris Sw., ou guaçatonga, é uma árvore medicinal pertencente à família Salicaceae, cujas folhas, ramos e raízes são amplamente utilizadas na medicina popular contra picadas de cobra e abelha, afecções do estômago e cicatrizante (Lorenzi, 2002). Estudos farmacológicos testaram amplamente as propriedades antiúlcera (Basile *et al.*, 1990), antitumoral (Almeida, 1999), genotóxicas (Maistro *et al.*, 2004), antiofídicas (Borges *et al.*, 2000) e antiinflamatórias (Almeida, 1999). *C. sylvestris* ocorre em todos os Estados do Brasil, e na maioria dos ambientes florestais, sendo que no Paraná é presente especialmente na Floresta Ombrófila Mista (Floresta de Araucária, *Araucaria angustifolia*) e na subformação Montana (Sleumer, 1980; Oliveira; Rotta, 1982; Lorenzi, 1992; Durigan *et al.*, 2003; Marquete; Vaz, 2007).

As folhas da *C. sylvestris* são oblongas, elípticas ou ovado-oblongas, dísticas como as da bicuíba (*Virola bicuiba*), que lembram folhas compostas, semelhantes às do cedro (*Cedrela fissilis*), da canjarana (*Cabralea canjerana* subsp. *canjerana*) e do cuvata (*Cupania vernalis*), motivo pelo qual pode ser confundida com essas árvores (Reitz *et al.*, 1983). As flores são pequenas e numerosas, de coloração esverdeada. Floresce nos meses de junho a agosto e seus frutos amadurecem a partir de setembro, prolongando-se até meados de novembro (Lorenzi, 1992).

A propagação de *C. sylvestris* pode ocorrer sexuada ou assexuadamente, por rebentos nascidos das raízes (Imatomi, 2007) ou estacas caulinares (Cavallari, 2008). O poder germinativo das sementes é, porém, baixo variando de 10% a 47% a 25°C; além disso, as sementes precisam de longo tempo para germinação e emergência e de temperaturas constantes como as obtidas no interior de mata onde, não havendo insolação direta plena, não há variações drásticas nas temperaturas diárias e sazonais (Rosa; Ferreira, 2006; Carvalho, 2007). Os frutos devem ser colhidos diretamente da árvore quando iniciar a abertura espontânea, operação nem sempre fácil pelos mesmos fazerem parte da alimentação da avifauna, principalmente do sabiá (*Turdus rufiventris*) responsável pela difusão das sementes (Pott; Pott, 1994; Carvalho, 2007).

Tais fatores dificultam a coleta e germinação das sementes de *C. sylvestris* para a produção de mudas, tornando a estaquia uma alternativa à propagação sexuada. A estaquia é aqui proposta como a técnica de maior viabilidade econômica, permitindo a multiplicação de genótipos selecionados com menor custo e em curtos períodos de tempo (Paiva; Gomes, 1995).

No que se refere à propagação vegetativa de *C. sylvestris*, os resultados obtidos até agora em estacas proveniente de planta adulta proporcionaram porcentagens de enraizamento e brotação baixas ou nulas (Imatomi, 2007; Cavallari, 2008). A utilização de reguladores vegetais, como a auxina sintética ácido indolbutírico (AIB), vem sendo amplamente utilizada para estimular a formação de raízes adventícias, aumentando a porcentagem de enraizamento e a uniformidade e qualidade do sistema radicial das estacas (Hartmann *et al.*, 2002).

Um dos motivos hipotizados até agora, relativos à dificuldade de enraizamento de estacas de *C. sylvestris* é o emprego de ramos fisiologicamente adultos como propágulos. Possivelmente este fato esteja relacionado com o aumento no conteúdo de inibidores e a diminuição de co-fatores à medida que aumenta a idade da planta (Betanin, 2008). Segundo Wendling e Xavier (2001), a maturação em plantas lenhosas, ou perda do caráter juvenil, é assunto de extrema importância em vista, principalmente, das variações na capacidade de propagação vegetativa, nas taxas e formas de crescimento, na qualidade e rapidez na formação de raízes, das mudanças nas características de crescimento, morfologia foliar e, também, a mudanças fisiológicas e bioquímicas, com a transição para o estado maduro.

Para evitar tais inconvenientes foram aprimoradas, especialmente em espécies recalcitrantes ou difíceis de enraizar, várias técnicas de rejuvenescimento capazes de resgatar as condições favoráveis ao enraizamento (Higashi *et al.*, 2000). Na propagação vegetativa o rejuvenescimento tem sido alcançado de várias maneiras: poda drástica de ramos e troncos, aplicações de citocininas ou herbicidas, propagação seriada via enxertia, propagação seriada via estaquia, micropropagação e miniestaquia (Wendling, 1999; Higashi *et al.*, 2000; Hartmann *et al.*, 2002; Xavier *et al.*, 2003). Cabe salientar também que mesmo em estacas oriundas de tecidos rejuvenescidos, a utilização de reguladores vegetais pode aumentar o potencial de enraizamento (Iritani; Soares, 1981).

A miniestaquia é uma técnica utilizada com sucesso na propagação clonal, resultado de um aprimoramento da estaquia, para contornar as dificuldades de enraizamento de algumas espécies difíceis de enraizar, como por exemplo *Eucalyptus* (Xavier, 2002). A técnica, segundo Ferrari *et al.* (2004), consiste na utilização de brotações de plantas obtidas de sementes ou da estaquia convencional, como fonte de propágulos vegetativos. Com a finalidade de estimular as brotações basais, são realizadas podas periódicas (segundo a espécie e a época do ano entre outras variáveis) nas quais cada vez é retirado o ápice da brotação da estaca ou da muda (Ferrari *et al.*, 2004; Wendling *et al.*, 2006). Dentre as vantagens da miniestaquia em relação a estaquia, tem-se a diminuição da área necessária para formação do minijardim clonal, por localizar-se em bandejas no próprio viveiro, redução dos

custos com transporte e coleta das brotações, maior eficiência das atividades de manejo no minijardim clonal (irrigação, nutrição, manutenções e controle de pragas e doenças), além de proporcionar maior qualidade, velocidade e percentual de enraizamento das miniestacas (Xavier *et al.*, 2003b).

A produtividade de brotações por minicepa e por coleta depende do sistema de cultivo e da forma de condução das minicepas, da concentração e da frequência da aplicação de nutrientes, bem como do adequado volume dos recipientes para o crescimento de um sistema radicial bem desenvolvido e maior número de brotações (Lima, 2008). No que se refere às brotações, cabe evidenciar que a formação de uma adequada parte aérea na muda, na forma de novas brotações, é tão importante quanto a obtenção de um bom sistema radicial, tanto em termos de síntese de fotoassimilados, indispensáveis para o desenvolvimento da nova planta, quanto para a futura sobrevivência da muda a campo.

Os protocolos de propagação vegetativa de *C. sylvestris* são, até agora, escassos, não havendo referências à produção de mudas via miniestaquia. Portanto, diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a produtividade de brotações de minicepas originadas por via sexuada, bem como verificar a resposta de enraizamento de miniestacas de *C. sylvestris* com o uso de diferentes concentrações de AIB, coletadas em diferentes meses dos anos de 2009 e 2010.

8.2 MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de *C. sylvestris* foram coletados no mês de dezembro de 2008 de plantas matrizes às margens do Bosque do Campus II da Universidade Federal do Paraná (Jardim Botânico), em Curitiba, Paraná (Figuras 11 A-B-C).

Para a obtenção das sementes, devido à dificuldade de colheita dos frutos, sendo estes deiscentes, efêmeros e altamente procurados por insetos e aves, foram utilizados sacos confeccionados de TNT com os quais foram cobertos alguns ramos que apresentavam frutos em fase de desenvolvimento, em 7 de outubro de 2008. Uma vez maduros, em dezembro do mesmo ano, foram retirados dos sacos e em seguida semeados inteiros em bandejas plásticas, com Plantmax HT® como substrato. As bandejas foram molhadas abundantemente e inseridas em sacos plásticos transparentes para preservar a umidade interna, mantidas no escuro e com temperatura constante de 25 °C, em sala climatizada do Laboratório de Micropropagação de Plantas do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, UFPR, Curitiba, PR.

A germinação foi iniciada aproximadamente aos 30 dias e estendeu-se até os seis meses após a sementeira. As plântulas emergidas, apresentando dois cotilédones e cerca de 2,5 cm de comprimento, foram transferidas (fevereiro/2009) para a casa de vegetação e transplantadas em tubetes de polietileno de 53 cm³ contendo Plantmax HT®. Das plântulas sobreviventes, 10 meses após a sementeira (setembro/2009, foram selecionadas 90, com altura de aproximadamente 15 a 20 cm, as quais foram transplantadas para vasos de polietileno (900 cm³) contendo solo argiloso como substrato (pH-SMP 5,9), com uma planta por vaso (Figura 11 D). Os vasos foram mantidos em casa de vegetação sem irrigação intermitente e irrigados manualmente sempre em sua capacidade de campo. Cada planta recebeu 6 mL de fertirrigação mensal com solução aquosa contendo 4 g L⁻¹ de sulfato de amônio, 10 g L⁻¹ de superfosfato simples, 4 g L⁻¹ de cloreto de potássio e 1 g L⁻¹ de FTE BR12 (9% Zn, 3% Fe, 2% Mn, 0,1% Mo, 1,8% B, 0,8% Cu) para a primeira aplicação e 1mL L⁻¹ de solução de micronutrientes MicroQ Green Top (0,4% Zn, 5% Fe, 1% Mn, 0,0075% Mo, 0,5% B, 0,07% Cu), para as aplicações restantes.

Após o transplante nos vasos, em setembro de 2009 foram necessárias 3 aplicações de solução inseticida devido à incidência de ataques de mosca branca (*Aleurothrixus* sp.); o produto utilizado foi uma solução aquosa de extrato de alho orgânico Natualho® Natural Rural (extrato de alho 70%) ao 20% na primeira aplicação, depois a concentração foi reduzida

a 2,5% devido a toxidez do produto. No início de março de 2010 os ataques de mosca branca se intensificaram e foi necessária a aplicação em todas as plantas do minijardim clonal uma solução inseticida, composta por um piretroide comercial adicionado do surfactante Tween 20 (1mL L^{-1} de solução) para melhorar a adesão nas folhas.

8.2.1 Produtividade de brotações

Aos 5 meses e 15 dias após o transplante (setembro/2009), as plantas com altura variando entre 20 e 35 cm tiveram seus ápices podados a uma altura média de 5 a 10 cm do colo (Figura 11 E), mantendo-se dois ou três pares de folhas, para a indução de brotações e conversão destas em minicepas, caracterizando um minijardim clonal. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 3 datas de coleta, 10 repetições de 9 vasos por parcela, cada vaso contendo 1 planta.

As coletas de brotações foram feitas de acordo com a formação de material vegetativo suficiente para a instalação do experimento em cada um dos três meses do ano em que foram feitas as instalações.

Para testar a homogeneidade das variâncias se utilizou o Teste de Bartlett. Após os dados foram submetidos à análise de variancia e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa ASSISTAT, versão 7.5 beta (Silva; Azevedo, 2009).

8.2.2 Enraizamento de miniestacas

A instalação dos experimentos foi feita de acordo com a formação de quantidade suficiente de brotações, sendo realizada nos meses de dezembro (11/12/09), janeiro (26/01/10) e abril (3/04/10). Miniestacas apicais foram coletadas a partir das brotações das minicepas e confeccionadas com 2,5 a 4,5 cm de comprimento, mantendo-se o ápice e um par de folhas desenvolvidas com a superfície reduzida à metade (Figura 12 A). Após a coleta foram acondicionadas em bandeja contendo água para evitar perdas por desidratação. As bases das miniestacas foram imersas em soluções hidroalcoólicas (50% v/v) contendo diferentes concentrações de AIB (0, 1000, 2000 e 3000 mg L^{-1}), por 10 segundos. O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno (53 cm^3) contendo Plantmax HT® e vermiculita na proporção 1:1

(Figura 12 B). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 12 tratamentos e 3 repetições de 15 estacas por parcela, com arranjo fatorial de 4 x 3 (4 concentrações de AIB x 3 meses do ano)

As miniestacas foram mantidas em casa de vegetação com irrigação intermitente e tempo de rega de 15 segundos a intervalos de 15 minutos, das 8h às 17h; 15 segundos a cada hora, das 17h às 23h e 15 segundos a cada 3 horas, das 23h às 8h. Aos 90 dias após o plantio, foram avaliadas as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas (estacas que apresentaram pelo menos uma raiz, com e sem presença de calos); porcentagem de estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos), porcentagem de estacas que apresentavam brotações apicais; porcentagem de estacas mortas (com necrose em toda ou na maior parte de sua extensão), número de raízes por estaca e comprimento das três maiores raízes formadas por estaca (cm), número de folhas retidas e massa seca das raízes (g).

Para testar a homogeneidade das variâncias utilizou-se o Teste de Bartlett e para a comparação de médias, os dados foram submetidos ao Teste Tukey a 5% e 1% de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa ASSISTAT, versão 7.5 beta (Silva; Azevedo, 2009).



Figura 12 - Miniestaquia de *C. sylvestris*. A - Plantas a campo B - Detalhe de ramo de *C. sylvestris* com frutos C - Frutos de *C. sylvestris*. D - Minijardim clonal. E - Minicepa obtida de semente ao momento da primeira poda em setembro/2009.

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.3.1 Produtividade de brotações

Os resultados obtidos revelaram que a produção média de miniestacas de *C. sylvestris* por minicepa aumentou de 2,46 a 2,90, com uma média geral de 2,67, em função das coletas realizadas a intervalos médios de 54,33 dias (Tabela 18).

Houve um aumento nas brotações das minicepas. No entanto, o número médio de brotações não resulta tão elevado se comparado com outras espécies como a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*), as quais apresentaram já nas primeiras coletas, um número de novas brotações bem mais elevado: 3,58 no final de novembro até 5,55 brotações/minicepa em abril, sendo as condições de crescimento das minicepas as mesmas do presente trabalho (Lima, 2008). Já Wendling *et al.* (2007), obtiveram 4,4 miniestacas/minicepa em erva-mate (*Ilex paraguariensis*) utilizando tubetes de 110 cm³ em sistema semi-hidropônico. Por outro lado os resultados obtidos são superiores à produção de brotações de outras espécies lenhosas como o cedro-rosa (*Cedrela fissilis*), no qual Xavier *et al.* (2003 a e b) verificaram uma produção média de 1,2 a 1,3 miniestacas/minicepa/coleta, com a utilização de tubetes de 55 cm³. Ainda em relação à produtividade de brotações em espécies nativas, Ferriani (2006) verificou para o vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia*) a produção média de 1,86 miniestacas/minicepa/coleta, em recipientes contendo 1700 cm³ de substrato, bem como Ferreira (2008) obteve para o leiteiro (*Sapium glandulatum*) uma produção média de 1,9 miniestacas/minicepa/coleta, utilizando recipientes contendo 205 cm³ de substrato.

De forma geral, analisando os dados fornecidos pela bibliografia, observa-se que os resultados constatados para espécies lenhosas nativas são bastante variáveis, havendo grandes variações na produção de brotações mesmo entre os mesmos gêneros, como no caso do eucalipto (*Eucalyptus* sp.), Titon *et al.* (2003) para *Eucalyptus grandis*; Cunha *et al.* (2005) para *Eucalyptus benthamii* e Rosa (2006) para *Eucalyptus dunnii*, obtiveram a produção de 9,7; 4,1 e 2,8 miniestacas por minicepa, em minijardins clonais. Tais diferenças podem ser devidas a variações intraespecíficas, ao manejo adotado e às condições climáticas do local da produção (Souza Júnior, 2007).

Tabela 18- Produtividade média de brotações de *C. sylvestris* por minicepa, em cada coleta, nos anos de 2009 e 2010. (Primeira poda: 16/09/2009).

COLETA	DATA	INTERVALO DE COLETA (dias)	PRODUTIVIDADE MÉDIA	
			Brotações por Minicepa	Brotações por m ²
1	11/12/2009	53	2,46 b	98,4
2	26/01/2010	47	2,67 ab	106,8
3	03/04/2010	63	2,90 a	116,0
Média Geral		54,33	2,67	107,07
C.V. (%)			11,19	

Teste de Bartlett (χ^2) 2.56^{n.s.} (n.s. não significativo)

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey ao 5% de probabilidade.

O número de coletas foi baixo devido a lenta resposta das minicepas às podas. *C. sylvestris* não apresenta naturalmente uma dominância apical definida (Carvalho, 2007) o que talvez explique como a retirada da brotação apical não estimulou rapidamente as gemas inferiores, uma vez que houve variação no número de dias entre os períodos de coleta de miniestacas (Tabela 18). As coletas foram realizadas nos períodos correspondentes às estações do ano com temperaturas elevadas o que seguramente contribuiu ao aumento da produção de brotações, conforme a quanto descrito também por Ferriani (2009) em vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia*) e por Brondani (2008) para *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*. Os resultados obtidos por estes dois autores foram superiores aos aqui relatados, sendo a primavera o período de maior produtividade para o vassourão-branco (com 5,1 e 6,7 brotações/minicepa) (Ferriani, 2009) e a primavera e o verão para o clone *E. benthamii* x *dunnii* H19, que apresentou até 13,80 miniestacas/minicepa (primavera) e até 15,76 miniestacas/minicepa no verão (Brondani, 2008).

Vários são os métodos que poderiam estimular e otimizar a produção de brotações nas minicepas de *C. sylvestris*, tais como a utilização de sistemas semi-hidropônicos, como o utilizado por Titon *et al.* (2003) os quais obtiveram até 9,7 miniestacas/minicepa de *Eucalyptus grandis* por mês; o plantio das mudas em canaletões em leito de areia e, com espaçamento 10 cm x 15 cm, como testado por Souza Júnior (2007) com excelentes resultados ou em tubetes como proposto por Cunha *et al.* (2005) para assegurar um 100% de sobrevivência das mudas; o intervalo de coleta das brotações também influencia a produção das mesmas, sendo que para minicepas de *Eucalyptus benthamii* plantadas em tubetes e em canaletão de areia, a produtividade média foi de 4,1 e 8,1 miniestacas/minicepa, respectivamente, em coletas realizadas a cada 25 ou 30 dias.

Em relação ao intervalo entre as podas Torres (2003) observou que as brotações mais aptas para o emprego da miniestaquia estão diretamente relacionadas ao aumento dos níveis de carboidratos em função da época do ano e do intervalo entre as coletas de brotações.

O aumento da periodicidade entre as coletas propicia, portanto, a expansão da área foliar específica, comportando assim uma maior produção de fotoassimilados e incremento dos níveis endógenos de carboidratos no caule (Torres, 2003). Vale salientar que para algumas espécies não é possível diminuir o intervalo de coleta, pois as mesmas precisam de períodos mais longos para formar novas brotações aptas a serem usadas na miniestaquia, como observado para as minicepas de *Grevillea robusta* (Souza Júnior, 2007).

A incidência de pragas nos minijardins clonais pode se refletir na produção de brotações como em minicepas de *Grevillea robusta* (Souza Júnior, 2007) onde a presença de fungos da espécie *Botrytis cinerea* no sistema de canaletão afetou a produção de brotações na coleta. No sistema de minijardim clonal em canaletão, às vezes ocorre o aparecimento de patógenos, devido ao adensamento entre as minicepas (Alfenas *et al.*, 2004). No presente trabalho, as minicepas de *C. sylvestris* foram sujeitas a vários ataques de mosca branca (*Aleurothrixus* sp.) sendo que infestações intensas de aleirodídeos resultam no desfolhamento de algumas árvores (Rodrigues; Cassino, 2003) o que talvez influenciou negativamente a produção de novas brotações assim como a densidade dos vasos e a facilidade da mosca de depositar os ovos nas novas folhas.

A produtividade de brotações de qualidade e de alto vigor é extremamente importante para a realização da técnica de miniestaquia, pois quanto maior a produção de material juvenil, maior a possibilidade de obtenção de miniestacas enraizadas e de mudas formadas, conforme observado por Wendling e Xavier (2005).

O emprego da técnica de miniestaquia para a propagação de *C. sylvestris* necessita de outros estudos relacionados à adubação e a sistemas mais adequados para a manutenção das minicepas (hidropônico, semi-hidropônico), uso de diferentes recipientes (tubetes) e substratos, permitindo a otimização da produtividade de brotações, os ajustes e a sustentabilidade do sistema de jardim miniclinal.

8.3.2 Enraizamento de miniestacas

8.3.2.1 Porcentagem de miniestacas enraizadas

A análise estatística revelou que a interação entre os fatores época de coleta e concentrações de AIB não foi significativa, demonstrando a independência dos fatores testados (Tabela 19).

Tabela 19 - Porcentagem de miniestacas enraizadas de *C. sylvestris* sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico(AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	93,33	97,80	100,00	97,80	97,20 A
Janeiro	88,67	95,33	93,33	80,00	89,47 AB
Abril	71,13	88,67	93,33	88,67	85,53 B
Médias	84,46 a	94,06 a	95,53 a	88,67 a	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Os maiores percentuais de enraizamento foram obtidos para as miniestacas coletadas no mês de dezembro/2009 e os menores no mês de abril/2010 (Tabela 19).

De acordo com a comparação de médias para épocas de coleta verificou-se diferença significativa, sendo que as miniestacas coletadas no mês de dezembro/2009 se destacaram com a maior porcentagem média de enraizamento. As porcentagens de enraizamento foram, de forma geral, muito elevadas, atingindo picos de 100% de enraizamento. O mês de abril foi o que apresentou menor porcentagem de enraizamento, com 71,13% de estacas enraizadas (Figura 12 C) .

Resultados semelhantes foram obtidos por Marinho *et al.* (2009) em miniestacas provenientes de mudas obtidas de semente de goiabeira (*Psidium guajava*) os quais obtiveram até o 100% de enraizamento a partir da segunda coleta de miniestacas. Igualmente Xavier *et al.* (2003a), em miniestacas de cedro-rosa (*Cedrela fissilis*), determinaram que não houve influência significativa nas várias dosagens de regulador vegetal testadas (0 a 4000 mg L⁻¹ de AIB), sendo que o maior enraizamento (100%) ocorreu na testemunha. Os autores explicaram tal resultado pelos propágulos utilizados serem juvenis, com o balanço hormonal interno favorável ao enraizamento e podendo portanto apresentar respostas negativas à aplicação

adicional de regulador vegetal. Tal fato discorda com os resultados obtidos no presente trabalho onde, mesmo não havendo diferenças significativas entre as concentrações de AIB, é possível observar uma linha de tendência segundo a qual o enraizamento aumenta da concentração de 0 até um pico ótimo correspondente a 2000 ou 1000 mg L⁻¹ de AIB para depois diminuir com o aumento da concentração aplicada (Tabela 19).

De acordo com Hartmann *et al.* (2002), a utilização de reguladores vegetais pode ser um incremento à capacidade de formação de raízes adventícias, contribuindo assim para o aumento da porcentagem de enraizamento e melhoria da uniformidade e da qualidade do sistema radicial formado.

Contudo, no presente trabalho, constatou-se que as miniestacas de *C. sylvestris* apresentaram uma juvenilidade muito favorável à indução radicial. Tais resultados tornam a produção de mudas da espécie por meio da técnica de miniestaquia a partir de material de origem seminal, uma técnica viável e altamente recomendável. As elevadas porcentagens de enraizamento em tempos muito reduzidos tornam a miniestaquia uma opção muito produtiva e econômica, especialmente quando comparada com trabalhos prévios de propagação vegetativa da espécie onde os percentuais de enraizamento foram baixos, como relatado por Imatomi (2007) e Cavallari (2008) os quais obtiveram respectivamente 25% e 21% de enraizamento para estacas caulinares e apicais de *C. sylvestris* com o uso de diferentes reguladores vegetais (ácido indolbutírico e ácido naftalenoacético) e fungos micorrízicos (Imatomi, 2007) e longa permanência em casa de vegetação (1 ano) (Cavallari, 2008).

No caso da miniestaquia de *C. sylvestris* os excelentes resultados obtidos justificam os relativamente longos tempos necessários para a efetiva obtenção das miniestacas enraizadas, no caso 15 meses, partindo da coleta dos frutos, conversão das mudas a minicepas, indução das brotações até o final do período de enraizamento das miniestacas.

De acordo com Wendling e Xavier (2005) o sistema de obtenção das minicepas é aparentemente mais longo que o enraizamento de estacas provenientes de matrizes adultas. No entanto, dependendo das características da espécie e de sua utilização, a miniestaquia pode vir a ser uma das opções mais baratas, pelo menor período de tempo de produção, qualidade das mudas e custos viáveis para o consumidor.

8.3.2.2 Número médio de raízes por miniestaca

Por meio dos resultados da análise de variância, verificou-se que não houve interação significativa entre os meses do ano e as concentrações de regulador vegetal, para número

médio de raízes, demonstrando que os mesmos são independentes. A maior média encontrada correspondeu às miniestacas coletadas no mês de abril de 2010, com 6,37 raízes por estaca, sendo que os tratamentos com o regulador vegetal, em todas as concentrações testadas, promoveram uma aumento no número de raízes comparadas ao tratamento testemunha (Tabela 20).

Um efeito mais acentuado do regulador vegetal foi verificado em estacas herbáceas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) coletadas no inverno, nas quais Silva (1999) observou a formação de 2,75 raízes por estaca para a testemunha, enquanto que a aplicação de auxina promoveu a formação de 10,75 raízes por estaca.

Tabela 20 – Número médio de raízes de miniestacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico(AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	4,07	4,93	5,38	5,13	4,88 B
Janeiro	3,13	4,58	5,42	4,73	4,47 B
Abril	4,55	7,22	6,87	6,86	6,37 A
Médias	3,92 b	5,58 a	5,89 a	5,57 a	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

A época de coleta das estacas exerce influência no número de raízes emitidas por estaca, pois quando são coletadas em períodos de intenso crescimento vegetativo possuem consistência mais herbácea, e, por isso, demonstram maior capacidade de enraizamento (Fachinello *et al.*, 2005). As estacas coletadas em abril, portanto durante o outono, apresentaram um número maior de raízes (Tabela 20) (Figura 12 D), dados que discordam dos obtidos por Alcântara *et al.* (2007), em miniestacas de *Pinus taeda* as quais obtiveram o menor número de raízes, assim como o menor percentual de enraizamento, no outono, respectivamente 0,40 e 2,50%, em mudas avaliadas após 90 dias. Os resultados obtidos no presente trabalho são ainda superiores àqueles obtidos em miniestacas de leiteiro (*Sapium glandulatum* Vell.) oriundas de minicepas produzidas por semente, nas quais no outono o regulador vegetal AIB não influenciou o número de raízes, sendo o máximo obtido de 4,32 raízes por estaca para 8000 mg L⁻¹ de AIB (Ferreira *et al.*, 2010). Os resultados finais de enraizamento e número de raízes obtidas nas ministacas deste período não concordaram com

as previsões derivadas das observações realizadas durante os monitoramentos semanais, provavelmente pelas baixas temperaturas durante a permanência em casa de vegetação seguidas pelo súbito aumento das mesmas, ocorrido nas últimas duas semanas antes da avaliação (7/7/2010) fato que deve de ter influenciado positivamente no desenvolvimento de raízes e brotações das miniestacas.

Tal observação concorda com a análise estatística segundo a qual não há necessidade de utilização de auxina para a formação de raízes em miniestacas de *C. sylvestris* oriundas de propágulos juvenis, sendo as condições externas como a época do ano ou internas como a juvenilidade, os fatores determinantes para o enraizamento e a formação de raízes adventícias. Contudo, é importante lembrar que a prática da miniestaquia é realizada em sequência sendo, portanto, fundamental para o estabelecimento de um protocolo definitivo de miniestaquia em *C. sylvestris* a realização de ulteriores experimentos nos demais meses do ano para o monitoramento do processo de enraizamento e complementação das informações aqui apresentadas.

8.3.2.3 Comprimento médio das três maiores raízes por miniestaca

Os resultados da análise de variância revelaram que houve interação entre os fatores época de coleta e concentração de AIB, para comprimento médio de raízes em miniestacas de *C. sylvestris*, demonstrando que os mesmos não são independentes (Tabela 21). Para esta variável os meses de dezembro/2009 (2,40 cm) e abril/2010 (2,18 cm) apresentaram as maiores médias, sendo o mês de dezembro levemente superior ao mês de abril (Tabela 21) (Figura 12F). Ferreira *et al.* (2010) em miniestacas de leiteiro (*Sapium glandulatum*) obtiveram resultados semelhantes em miniestacas enraizadas na primavera, com comprimento médio de raízes de 2,12 cm com a aplicação de AIB assim como no outono, época em que a média foi de 1,66 cm. As miniestacas coletadas no mês de janeiro/2010 apresentaram as menores médias para o comprimento de raízes, não havendo diferença significativa entre a testemunha e a máxima concentração de AIB testada, 3000 mg L⁻¹ (Tabela 21).

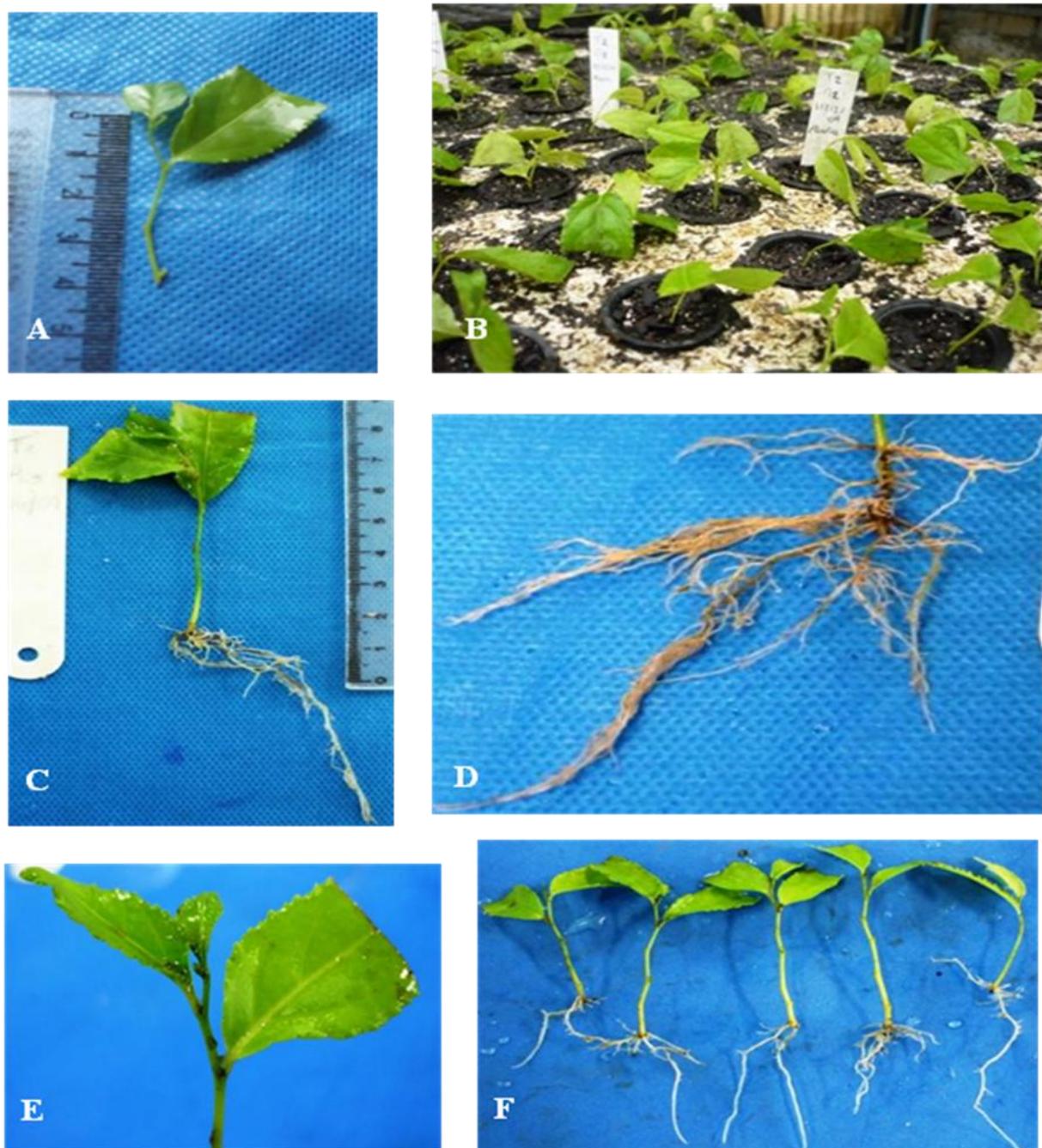


Figura 12 - Miniestacaia de *Casearia sylvestris*. A - Confecção da miniestaca. B. Bandeja com miniestacas de *C. sylvestris* coletadas em dezembro/2009. C - Miniestaca coletada em janeiro/2010 enraizada e brotada sem AIB. D - Detalhe de sistema radicial de miniestaca de *C. sylvestris* coletada em abril/2009 e enraizada após tratamento com 2000 mgL^{-1} de AIB. E - Detalhe de brotação em miniestaca coletada em janeiro/2010 F - Miniestacas de *C. sylvestris* coletadas em dezembro/2009 enraizadas e brotadas com 2000 mg L^{-1} de AIB.

Tabela 21 - Comprimento médio das três maiores raízes de miniestacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), em três meses dos anos 2009 e 2010 e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	1,34 aC	1,65 aBC	2,40 aA	2,00 aAB	1,85
Janeiro	0,75 bB	1,03 bAB	1,42 bA	0,76 bB	0,99
Abril	1,66 aAB	2,18 aA	1,54 bB	1,15 bB	1,63
Médias	1,24	1,62	1,79	1,30	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Provavelmente, o baixo percentual do número de raízes nas miniestacas enraizadas no verão está relacionado com as elevadas temperaturas observadas no período após o plantio das miniestacas no final de janeiro, seguidas por um decréscimo das temperaturas nos meses seguintes até a avaliação das mesmas que poderiam ter esfriado o substrato de enraizamento das miniestacas. O aquecimento do substrato de enraizamento também é citado como um tratamento que favorece o enraizamento e desenvolvimento das raízes (Tonietto *et al.*, 2001). Segundo Nachtigal (1999), a redução do comprimento pode ocorrer devido à competição existente entre as raízes pelas reservas da estaca, provocando uma relação inversamente proporcional ao número de raízes, o que poderia explicar o elevado número de raízes nas miniestacas da última coleta e a redução do comprimento das mesmas comparadas com os outros meses.

O maior comprimento correspondeu à concentração 2000 mg L⁻¹ de AIB (1,42 cm). De acordo com os resultados, o uso de regulador vegetal e a coleta das estacas no final da primavera contribuíram com a obtenção de raízes de miniestacas de *C. sylvestris* mais longas. Segundo Tonietto *et al.* (2001) em miniestacas de amexeira cultivar Pluma 7 (*Prunus salicina*) o AIB e a cultivar interagiram na variável comprimento de raiz, obtendo-se o maior comprimento com AIB a 2000 mg L⁻¹. Segundo os mesmos autores, com a indução e provável antecipação da formação de raízes com a utilização do AIB, houve um período maior para o crescimento das raízes dentro do substrato, tendo assim o AIB um efeito indireto sobre o comprimento de raiz. Assim o sucesso do uso do AIB pode ser atribuído ao melhor balanço hormonal dos propágulos e ao menor tempo para iniciar o enraizamento, diminuindo o

estresse fisiológico de um prolongado tempo sem raízes, o que muitas vezes ocasiona a morte da estaca.

É importante salientar que para a produção de mudas, a porcentagem de enraizamento das estacas é de extrema importância. Entretanto, a qualidade do sistema radicial é determinante para a sobrevivência da muda, sendo verificada pela presença de raízes, numerosas e desenvolvidas (Reis *et al.*, 2000; Lima, 2008). Mudanças com sistema radicial restrito, quando transplantadas para o campo, têm dificuldade de compensar a evapotranspiração, mesmo se bem irrigadas após o transplante (Wien, 1997).

No presente trabalho os sistemas radiciais observados apresentavam uma boa conformação das raízes, sendo estas bem ramificadas e distribuídas, podendo surgir tanto de calos na base da estaca quanto de porções superiores ao corte basal. Porém, não foi observada uma específica resposta à aplicação de concentrações crescentes em concentração de AIB para tal característica.

8.3.2.4 Massa seca das raízes

A análise de variância não demonstrou interação significativa entre os fatores época de coleta e concentração de AIB, para a variável massa seca de raízes por miniestaca (Tabela 22).

Para esta variável, os resultados evidenciam que o mês de dezembro/2009 associado com a concentração 2000 mg L⁻¹ foi a combinação que produziu maior massa seca de raízes (64,67mg).

Pela comparação das médias, o melhor mês foi dezembro/2009, sendo muito superior ao restante dos meses avaliados (54,58 mg); o regulador vegetal promoveu o aumento de massa seca em razão do aumento da concentração até atingir o pico máximo (2000 mgL⁻¹) e diminuir com a maior concentração testada (Tabela 22). Provavelmente, a produção de massa seca de raízes foi também estimulada pela presença das folhas, como também relatado para miniestacas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis*) que tiveram a biomassa radicial elevada pela presença de folhas, de 33,19 para 50,64 mg/estaca, representando aumento de 52,6 % (Carvalho *et al.*, 2007).

Tabela 22 - Massa seca das raízes de miniestacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	39,00	54,00	64,67	60,67	54,58 A
Janeiro	18,33	24,67	49,00	24,67	29,17 B
Abril	20,33	45,67	26,33	18,33	27,67 B
Médias	25,89 b	41,44 a	46,67 a	34,56 ab	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Em relação à estaquia convencional, Biasi *et al.* (2000) constataram que a utilização de AIB (no caso 2000 mg L⁻¹), além de favorecer o enraizamento, reduziu a taxa de mortalidade, aumentou a retenção foliar e o número de raízes por estaca, e promoveu o desenvolvimento do sistema radicial de dois cultivares de pessegueiro (Coral e Ouro) e um cultivar de nectarineira (Sun Red). Outros autores também verificaram o efeito do AIB no aumento do volume e massa seca de raízes de pessegueiro (Rufato *et al.*, 1999).

A maior massa de raízes pode influenciar diretamente o desenvolvimento da muda em viveiro e posterior transplante a campo, devido a maior capacidade de absorção de água e nutrientes (Santoro *et al.*, 2010).

8.3.2.5 Número médio de folhas retidas

Por meio dos resultados da análise de variância, verificou-se que houve interação entre os fatores época de coleta e concentração de regulador vegetal, para número médio de folhas retidas, demonstrando que os mesmos não são independentes. As diferenças entre todos os tratamentos foram mínimas, porém, o maior número de folhas retidas correspondeu às miniestacas coletadas em abril e tratadas com 2000 mg L⁻¹ de AIB (30 folhas), ou seja todas as miniestacas retiveram as duas folhas iniciais (Tabela 23).

Para Carvalho *et al.* (2007) a manutenção de só meia folha no ápice da estaca permitiu a produção de maior número e massa seca de raízes em miniestacas herbáceas de maracujazeiro amarelo, comparadas às miniestacas sem folha.

Tabela 23 - Número médio de folhas retidas em miniestacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB0, coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	29,00 aA	29,67 aA	28,33 aAB	26,33 bB	28,33
Janeiro	29,33 aA	29,33 aA	28,67 aA	24,67 bB	28,00
Abril	29,67 aA	29,33 aA	30,00 aA	29,33 aA	29,58
Médias	29,33	29,44	29,00	26,78	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

A concentração 3000 mg L⁻¹ de AIB foi a que induziu uma menor retenção de folhas, 26,33 e 24,67 folhas por tratamento para os meses de dezembro e janeiro respectivamente, talvez pelo leve efeito fitotóxico da concentração ou pelas altas temperaturas do período. Contudo houve 0% de mortalidade em todos os tratamentos, pelo que a retenção foliar se revelou adequada e fundamental ao sucesso de enraizamento e brotação das miniestacas. A presença de folhas no enraizamento de estacas influencia o processo de formação radicial, auxiliando no transporte de substâncias promotoras de enraizamento e promovendo a perda de água por transpiração (Costa Júnior, 2000). A preservação das folhas garante a sobrevivência das estacas, tanto pela síntese de carboidratos através da fotossíntese, como pelo fornecimento de auxinas e outras substâncias denominadas co-fatores de enraizamento, estimulando a atividade de troca e a diferenciação celular (Ono; Rodrigues, 1996; Hartmann *et al.*, 2002).

Em estacas onde são retidas as folhas, a auxina endógena, produzida nas folhas e nas gemas, move-se naturalmente segundo um gradiente para a parte inferior do caule, aumentando a sua concentração na base, junto com os açúcares e outras substâncias nutritivas (Taiz; Zeiger, 2004).

8.3.2.6 Porcentagem de miniestacas brotadas

A análise estatística revelou que a interação entre os fatores época de coleta e concentrações de AIB não foi significativa, demonstrando a independência dos fatores testados (Tabela 24). Os maiores percentuais de miniestacas brotadas foram obtidos para as coletas no mês de dezembro/2009 e os menores no mês de janeiro/2010 (Tabela 24) (Figura 12E).

As combinações de fatores que promoveram maior formação de brotações foram as coletas efetuadas no começo de janeiro e de abril, associadas ao tratamento com 2000 mg L⁻¹ de regulador vegetal, o que proporcionou o 66,67% e 68,87% de brotações respectivamente (Tabela 24). O tratamento testemunha proporcionou, nos meses de janeiro e abril, as menores porcentagens de novos brotos, provavelmente devido ao menor número, crescimento e massa seca de raízes das miniestacas (Tabela 24).

Tabela 24 - Porcentagem de miniestacas de *C. sylvestris* brotadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	57,80	57,80	66,67	64,47	61,67 A
Janeiro	26,67	28,87	33,33	28,87	29,47 B
Abril	22,20	62,20	68,87	57,80	52,80 A
Médias	35,53 b	49,60 ab	56,27 a	50,40 ab	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Provavelmente a presença de folhas promoveu maior porcentagem de estacas brotadas como constatado por Pio *et al.* (2004), os quais obtiveram 67,5% de brotações para estacas com um par de folhas e 82,5% para estacas com dois pares de folhas.

De forma geral, observa-se que provavelmente o nível interno de auxinas/citocininas foi favorável à formação de parte aérea, após a indução radicial. As citocininas, produzidas principalmente no meristema apical das raízes e nas partes aéreas das plantas como as folhas jovens, também modificam a dominância apical e promovem o crescimento de gemas laterais (Fachinello *et al.*, 2005).

8.3.2.7 Porcentagem de miniestacas vivas, sem raízes e com calos

A análise de variância não demonstrou interação significativa entre os fatores época de coleta e concentração de AIB para porcentagem de miniestacas vivas sem raízes e com calos, constatando-se a independência entre os fatores (Tabela 25).

Nenhuma das miniestacas coletadas em dezembro/2009 apresentou estacas com calos e sem enraizar, diferindo dos demais meses em que houve percentual relativamente elevado de estacas com calos e sem raiz em correspondência ao tratamento testemunha e 1000 mg L⁻¹ de AIB, sendo a porcentagem maior 28,87% para miniestacas coletadas em abril e não tratadas com regulador vegetal (Tabela 25). Ferriani (2006) também constatou que a formação de calos não constituiu pré-requisito para a formação de raízes em miniestacas de vassourão branco (*Piptocarpha angustifolia*). Resultados análogos foram obtidos por Ferreira *et al.* (2010) em miniestacas de leiteiro (*Sapium glandulatum*) onde a análise de variância indicou que somente o fator estações do ano mostrou efeito significativo sobre a variável miniestacas com calos sendo, porém, o período de inverno menos favorável à formação de calos na base das miniestacas, independente do tipo e da concentração dos reguladores vegetais

Tabela 25 - Porcentagem de miniestacas de *C. sylvestris* vivas (sem raízes e com calo), sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 B
Janeiro	13,33	4,47	0,00	0,00	4,47 AB
Abril	28,87	11,13	2,20	4,47	11,67 A
Médias	14,07 a	5,20 a	0,73 a	1,47 a	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

Essas observações concordam com o descrito por Lima (2008) em miniestacas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) a qual verificou que, quando presentes, os calos formaram-se na base do corte e também na região ao redor do caule, localizada logo acima do corte. Considerando as altas porcentagens de enraizamento obtidas em todas as coletas pode-se hipotizar que o desenvolvimento de calos não resulta numa condição para a indução das raízes adventícias em miniestacas de *C. sylvestris*, fato também confirmado pelos trabalhos de Lima (2008) e Ferreira *et al.* (2010) em miniestacas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) e de leiteiro (*Sapium glandulatum*) respectivamente.

8.3.2.8 Porcentagem de estacas vivas, sem raízes e sem calos

A análise de variância não mostrou interação entre os fatores época de coleta e concentração de AIB para miniestacas vivas, sem raízes e sem calos demonstrando que os fatores são independentes (Tabela 26). A sobrevivência das miniestacas sem formação de raízes não foi influenciada pela aplicação do regulador vegetal nem pela estação do ano.

Tabela 26- Porcentagem de miniestacas de *C. sylvestris* vivas, (sem raízes e sem calos), sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB), coletadas em três diferentes meses e avaliadas aos 90 dias.

Época de coleta	Concentrações de AIB (mg L ⁻¹)				Médias
	0	1000	2000	3000	
Dezembro	4,47	2,20	0,00	2,20	2,20 A
Janeiro	0,00	0,00	6,67	15,53	5,53 A
Abril	0,00	0,00	8,87	4,47	3,33 A
Médias	1,46 a	0,73 a	5,20 a	7,40 a	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade.

A maior porcentagem de miniestacas vivas (15,53%) foi obtida a partir de miniestacas coletas no mês de janeiro de 2010 e tratadas com 3000 mg L⁻¹ de AIB (Tabela 26). A presença de estacas vivas sem calos e não enraizadas poderia indicar que houve um atraso no enraizamento das estacas, ou ainda, que a permanência por mais tempo no leito de enraizamento poderia resultar em indução do enraizamento, como sugerido por Lima *et al.* (2006).

8.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, foi possível concluir que:

Em minijardins clonais de origem seminal a produtividade média de brotações/minicepa/coleta aumenta com as coletas realizadas de dezembro até abril;

A aplicação de ácido indolbutírico apresenta pouca influência no enraizamento adventício de miniestacas, aumentando, porém, o número de raízes em todos os meses testados;

Devido à maior porcentagem de enraizamento e formação de brotações, o mês de dezembro é o mais favorável para a coleta de miniestacas de *C. sylvestris*.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, G. B. de.; RIBAS, L. L. F.; HIGA, A. R.; ZUFFELLATO RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento. De miniestacas de *Pinus taeda* L. **Revista Arvore**, v. 31, n. 3, p. 399-404, 2007.
- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e Doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442 p.
- ALMEIDA, A. **Atividade antiinflamatória e antitumoral do extrato hidroalcolólico de *Casearia sylvestris*: estudo comparativo com os antiinflamatórios piroxicam e meloxicam**. 1999. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1999.
- BASILE, A.C; SERTIE, J. A. A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C.A. pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I. Preventive antiulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, n. 2, p. 185-197, 1990.
- BETANIN, L. **Fenologia, frutificação e propagação por estaquia da corticeira-da-serra (*Erythrina falcata* Benth.)**. 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, 2008.
- BIASI, L. A.; STOLTE, R. E.; SILVA, M. F. da. Estaquia de ramos semilenhosos de pessegueiro e nectarineira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, n. 3, p. 421-425, 2000.
- BORGES, M. H.; SOARES, A. M.; RODRIGUES, V. M.; ANDRIÃO-ESCARSO, S. H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIÉRREZ, J. M.; GIGLIO, J. R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 127, p. 21-30, 2000.
- BRONDANI, G. E. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage X *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2008. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Centro de Ciências Florestais e da Madeira, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- CARVALHO, P. E. R. **Cafezeiro-do-Mato - *Casearia sylvestris***. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, Circular Técnica, n. 138, 2007. 16 p.
- CARVALHO, R.I.; SILVA, I.D.; FAQUIM, R. Enraizamento de miniestacas herbáceas de maracujazeiro amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p.387-92, 2007.
- CAVALLARI, M. M. **Variabilidade genética e química entre e dentro de populações de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) no Estado de São Paulo**. 2008. 127 f. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2008.
- COSTA JÚNIOR, W. H. Da. **Enraizamento de estacas de goiabeira: influência de fatores fisiológicos e mesológicos**. 2000. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Produtividade e sobrevivência de minicepas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage em sistema de hidroponia e em tubete. **Ciência Florestal**, v. 15, n. 3, p. 307-310, 2005.

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; BRIDGEWATER, S.; RATTER, J. A. The vegetation of priority areas for cerrado conservation in São Paulo State, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 217-241, 2003.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, n. 94, 2004. 22 p.

FERREIRA, B. G. A. **Propagação de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por estaquia, miniestaquia e sementes**. 2008. 135 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; NOGUEIRA, A. C. Miniestaquia de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax com o uso de ácido indol butírico e ácido naftaleno acético. **Ciência Florestal**, v. 20, n. 1, p. 19-31, 2010.

FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia* Dusén)**. 2006. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FERRIANI, A. P. **Miniestaquia de quantificação de polifenóis em *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex. Malme**. 2009. 84 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. de A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e sua evolução no Brasil**. Piracicaba: IPEF, Circular Técnica, n. 192, p.1-11, 2000.

IMATOMI, M. **Interferência de fatores bióticos e abióticos na propagação e conservação de *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae)**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

LIMA, D. M. **Propagação vegetativa de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reisse)**. 2008. 182 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LIMA, D. M. de; ALCÂNTARA, G. B. de; BORTOLINI, M. F.; FANTI, F. P.; BIASI, L. A.; QUOIRIN, M.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Substratos e concentrações

de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra selloi* e *Calliandra tweediei*. **Scientia Agraria**, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

LORENZI, H. **Arvores brasileiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992. 115 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 4.ed., v.1, 2002, 131 p.

MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J. C. T.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and v 79 cells by the comet assay. **Toxicology in vitro**, v. 18, p. 337-342, 2004.

MARQUETE, R.; VAZ, A. M. S. F. da. O gênero *Casearia* no estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, v.4, n. 58, p.705-738, 2007.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D.G.; POMMER, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 607-611, 2009.

NACHTIGAL, J.C. **Obtenção de porta-enxertos ‘Okinawa’ e de mudas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) utilizando métodos de propagação vegetativa**. 1999. 165 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

OLIVEIRA, Y. M. M. de.; ROTTA, E. Levantamento da estrutura vertical de uma mata de araucária do primeiro planalto paranaense. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4. 1982, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA, 1982. p. 27-41

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Botucatu: Unesp/Funep, 1996. 83 p.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**: Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1995. 40 p.

PIO, R.; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D.; GONTIJO, T. C. A.; TOLEDO, M.; CARRIJO, E. P. Presença de folhas e gema apical no enraizamento de estacas herbáceas de figueira oriundas da desbrota. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 51-54, 2004.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA – CPAP, 1994. 320 p.

REIS, J. M. R.; CHALFUN, N. N. J.; LIMA, L. C. O.; LIMA, L. C. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do portaenxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. **Sellowia**, n. 34-35, p.1-525, 1983.

RODRIGUES, W. C; CASSINO, P. C. R. Parasitismo de *Aleurothrixus floccosus* (Homoptera, Aleyrodidae) por *Encarsia* SP. (Hymenoptera, Aphelinidae) E *Signiphora* SP. (Hymenoptera, Signiphoridae) em tangerina (*Citrus reticulata*) cv. Poncã. **Revista Universidade Rural**, v. 23, n.1, p. 31-37, 2003.

ROSA, S. G. T. da; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botânica Brasileira**, v. 15, n. 2, p. 147-154, 2001.

ROSA, L.S. **Adubação nitrogenada e substratos na miniestaquia de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2006. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

RUFATO, L.; ROSSI, A. de; LOMBARDI, S. R.; RIBEIRO, E.; KERSTEN, E. Efeito de diferentes concentrações de floriglucinol no enraizamento de estacas de duas cultivares de pessegueiro (*Prunus persica* L. Batsch) tratadas com AIB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 21, n. 3, p. 297-300, 1999.

SANTORO, P. H.; MIKAMI, A. Y.; SOUZA, S. G. H. de; ROBERTO, S. R. Influência de folhas e lesões na base de estacas herbáceas no enraizamento de goiabeira da seleção 8501-9. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 289-294, 2010.

SLEUMER, H. O. **Flora Neotropica Monograph: Flacourtiaceae**. New York: The New York Botanical Garden, n. 22, 1980. 499 p.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. **Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, C. P. De. **Efeitos do ANA, ácido bórico, paclobutrazol e da época de coleta, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia* Mart.)**. 1999. 99 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

SOUZA JUNIOR, L. de. **Tipo de minijardim clonal e efeito do ácido indolbutírico na miniestaquia de *Grevillea robusta* A. Cunn. (Proteaceae)**. 2007. 66 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, L. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TITON, M.; XAVIER, A.; REIS, G.G.; OTONI, W.C. Eficiência das minicepas e microcepas na produção de propágulos de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 27, n. 5, p. 619-625, 2003.

TONIETTO, A.; LUCES FORTES, G. R. DE; SILVA, J. B. DA. Enraizamento de miniestacas de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 373-376, 2001.

TORRES, A. G. M. **Relação entre sazonalidade, desrama e carboidratos no crescimento do eucalipto na propagação vegetativa por miniestaquia**. 2003. 65 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

WENDLING, I.; DUTRA, L.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p.2 89-292, 2007.

WENDLING, I.; DUTRA, L.; GROSSI, F. **Produção de Mudras de Espécies Lenhosas**. Colombo: Embrapa Florestas, n. 130. 2006. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/doc130.pdf>> Acesso em: 4 jun. 2010

WENDLING, I., XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e ds miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**. v. 29, n. 6, p. 921-930, 2005.

WENDLING, I., XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 187-194, 2001.

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

WIEN, H.C. **The physiology of vegetable crops**. Oxon: CABI Publishing, 1997. 662 p.

XAVIER, A. **Silvicultura clonal I - princípios e técnicas de propagação vegetativa**. Viçosa:UFV, 2002. 64p.

XAVIER, A.; SANTOS, G.A.; OLIVEIRA, M.L. Enraizamento de miniestacas caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Árvore**, v. 27, n. 3, p. 135-356, 2003a.

XAVIER, A.; SANTOS, G.A.; WENDLING, I; OLIVEIRA, M.L. Propagação vegetativa de cedro rosa por miniestaquia. **Revista Árvore**, v. 27, n. 2, p. 139-143, 2003b.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a produção de óleo essencial de *C. sylvestris* a secagem do material em estufa com ar aquecido foi o tratamento que proporcionou o rendimento mais elevado associado à maior quantidade detectada de constituintes do óleo (Capítulo 2). As concentrações dos constituintes do óleo variaram em relação à modalidade de secagem, portanto posteriores aplicações deverão ter em conta tais variações, conforme a utilização final do óleo.

As folhas secas ao ar ambiente, sem aparelho desumidificador, no período em que foi realizado o experimento, demoraram ao redor de 60 dias até atingir massa constante, o que tornou a técnica pouco viável do ponto de vista logístico. Contudo, os alcoóis thunbergol e espatulenol apresentaram teores superiores em folhas secas ao ar ambiente, demonstrando que a secagem em estufa seguramente contribuiu com a degradação de uma fração de constituintes do óleo que poderia ser de utilidade para usos futuros.

A utilização de câmaras com ambiente controlado e sistema de desumidificação do ar poderia levar a obtenção de óleo essencial de *C. sylvestris* com um bom equilíbrio entre quantidade e qualidade dos constituintes do óleo.

No que se refere à propagação vegetativa de *C. sylvestris*, os resultados obtidos no primeiro experimento de estaquia, relativos às quatro estações do ano, revelam que a utilização de material oriundo de plantas adultas de *C. sylvestris* não é adequada para o enraizamento de estacas. Tal fato pode ser devido às alterações bioquímicas e fisiológicas decorrentes da perda da juvenilidade, como a menor presença de co-fatores do enraizamento e maiores teores de inibidores do enraizamento. Tal aspecto pode ser constatado ao observar as porcentagens de enraizamento obtidas no começo da primavera de 2008, cujas estacas, oriundas das mesmas plantas matrizes foram coletadas seis meses após a realização de poda, e a porcentagem de enraizamento aumentou 37,5% em comparação com o enraizamento obtido precedentemente com o material não oriundo de poda.

Uma vez conhecidos os possíveis fatores determinantes para o enraizamento da espécie, época do ano (primavera) e condição fisiológica do explante (material rejuvenescido), foram delineados mais dois experimentos visando aprimorar os resultados obtidos: a miniestaquia seriada de propágulos juvenis e a estaquia de brotações oriundas de podas drásticas. O objetivo foi a obtenção de estacas com um elevado percentual enraizamento e com brotações. Nos primeiros dois experimentos não foram observadas estacas brotadas, (com uma única exceção, em estacas de brotações obtidas após a poda), fato que, do ponto de vista prático, impede a obtenção de uma muda viável. Todas as estacas enraizadas do segundo experimento

(Capítulo 4) foram transferidas para sacos plásticos e permaneceram em casa de vegetação com o objetivo de avaliar a possível formação de brotações. Dois anos após a instalação do experimento nenhuma estacas apresentou novas brotações, sendo que as folhas originais ficaram retidas.

Uma das hipóteses elaboradas para explicar a ausência de brotações nas estacas foi o possível crescimento plagiotrópico dos ramos de *C. sylvestris*, que poderia ter contribuído com a falta de crescimento vertical das estacas propagadas. Com objetivo de comprovar tal hipótese foram realizadas podas drásticas nas plantas matrizes, sendo que geralmente as brotações basais apresentam um crescimento tipo ortotrópico. Mais uma vez nenhuma das estacas apresentou brotações, mesmo com média de 4-5 gemas axilares. *C. sylvestris*, segundo a bibliografia, é uma espécie dicotômica e simpódica, ou seja, com a ocorrência de brotos múltiplos, e bifurcações no fuste e com dicotomia para a gema apical (sem dominância apical definida) contudo a retirada da gema apical não estimulou o desenvolvimento das gemas axilares, que ficaram dormentes ou perderam a atividade meristemática.

O experimento de miniestaquia (Capítulo 8), pode ser considerado um sucesso em termos de brotações e enraizamento (Tabela 27), sendo que as miniestacas apresentavam exclusivamente brotações apicais e sistemas radiciais bem desenvolvidos, com raízes principais e secundárias.

Quanto à utilização de auxina neste experimento pôde-se verificar que as estacas de forma geral não responderam à aplicação de AIB nas concentrações testadas, com exceção das estacas de brotações do ano (Capítulo 3), as quais talvez ainda não possuíam um nível suficiente de auxinas endógenas, capaz de dispensar o uso do regulador vegetal. Portanto, o lento ou difícil enraizamento da espécie não é solucionado pela aplicação exógena de auxina, e sim com o rejuvenescimento fisiológico dos tecidos utilizados como explantes.

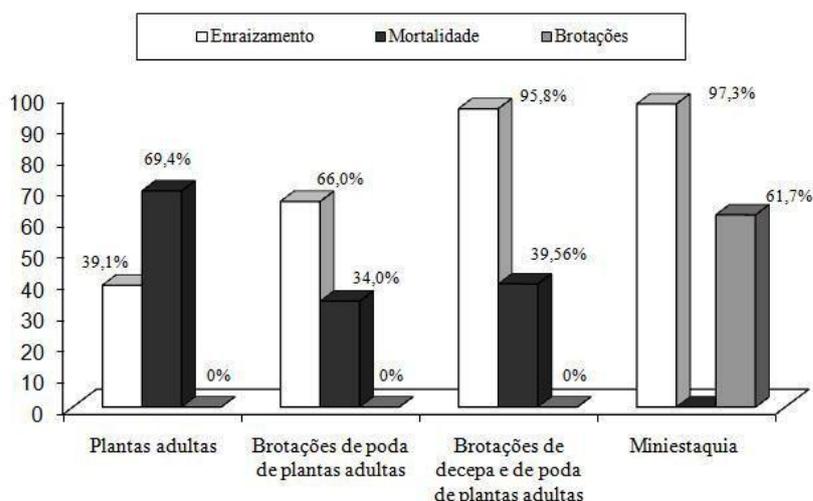


Figura 13 - Porcentagem de enraizamento, mortalidade e brotações em estacas de plantas adultas, estacas de brotações de decepta e de poda de plantas adultas e miniestacas de *C. sylvestris*.

A Figura 13 reúne as médias gerais obtidas para as variáveis enraizamento, mortalidade e brotações, analisadas em todos os experimentos realizados no presente trabalho, apresentando uma síntese comparativa dos mesmos. Os melhores resultados observados para a estaquia bem como as principais características de cada um dos experimentos são apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 - Comparação geral entre os melhores resultados obtidos no enraizamento por estaquia de *C. sylvestris*.

Origem do Explante	Época (mês)	AIB (mg L ⁻¹)	Enraizamento (%)	Brotações apicais (%)	Tempo de enraizamento (dias)
Plantas adultas	Final da primavera	-	39,1	-	150
Brotações pl. adultas	Começo da primavera	-	66,0	-	180
Brotações de decepta e de poda	Começo da primavera	-	95,8	-	180
Miniestaca	Final da primavera	-	97,3	61,7	90

As maiores porcentagens de enraizamento foram obtidas com a utilização da miniestaca, em todos os meses testados. Quando comparada à estaquia com o uso de estacas obtidas de plantas adultas, a eficiência da miniestaca para a produção de mudas torna-se evidente. Estes resultados indicam que o uso de material juvenil obtido de brotações provenientes de minicepas propagadas por semente favorece o enraizamento da espécie.

Outro fator que deve ser ressaltado é a considerável redução do tempo de permanência das miniestacas no leito de enraizamento. Desse modo, é possível concluir que por dispensar a

utilização de regulador vegetal, diminuir o tempo de enraizamento e proporcionar mudas com bom desenvolvimento aéreo e radicial, a miniestaquia resulta a técnica com maior viabilidade econômica e eficiência para a propagação vegetativa de *C. sylvestris*.

10 CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que foram realizados os experimentos com *Casearia sylvestris* Swartz, é possível concluir que:

O melhor período para a coleta de folhas de *C.sylvestris* com maior rendimento de óleo essencial é o final do outono até o começo da primavera, para a região de Curitiba, Paraná.

Folhas secas de *C.sylvestris* apresentam maior rendimento e maior número de constituintes no óleo essencial.

Estacas semilenhosas obtidas de plantas matrizes adultas apresentam baixa capacidade de enraizamento, mesmo com a utilização de AIB até a concentração de 3000 mg L⁻¹.

Estacas semilenhosas obtidas de brotações do ano e provenientes de propágulos desenvolvidos após podas drásticas apresentam elevada porcentagem de enraizamento sem aplicação de AIB.

Para estacas provenientes de propágulos de plantas adultas a espécie pode ser considerada de lento enraizamento, sendo o período de permanência das estacas no leito de enraizamento de 150 a 180 dias.

Miniestacas provenientes de material juvenil obtido de minicepas originadas de semente apresentam maior capacidade de enraizamento adventício e de emissão de brotações, sem a necessidade de utilização de AIB.

A juvenilidade é fator determinante para a propagação vegetativa de *C. sylvestris*.

ANEXOS

Anexo 1 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de δ elemeno, α cubebeno, ciclosativeno, α -copaeno e β bourboneno presentes no óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	δ elemeno	α cubebeno	ciclosativeno	α -copaeno	β bourboneno
Meses	4	1,52 **	2,72 **	2,71 **	6,41 **	0,004 **
Residuo	10	0,22	0,01	1,90	0,30	0,002
CV(%)		29,22	5,01	35,90	29,34	62,14
χ^2		3,73 n.s.	11,03 n.s.	8,24 n.s.	12,97 n.s.	11,04 n.s.

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 2 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de β elemeno, α gurjuneno, trans-cariofileno, β gurjuneno e α -guaieno presentes no óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	β elemeno	α gurjuneno	trans-cariofileno	β gurjuneno	α -guaieno
Meses	4	6,04 **	5,42 **	39,88 **	2,75 **	0,41 **
Residuo	10	0,86	0,03	1,63	0,23	0,05
CV(%)		21,59	5,85	16,83	30,76	10,42
χ^2		8,09 n.s.	3,38 n.s.	0,86 n.s.	0,56 n.s.	8,64 n.s.

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 3 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de α humuleno, seicheleno, germacreno D, β selineno e biciclogermacreno presentes no óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	α humuleno	seicheleno	germacreno D	β selineno	biciclogermacreno
Meses	4	0,64**	0,62**	165,63**	0,73**	220,94**
Residuo	10	0,04	0,02	16,03	0,19	71,77
CV(%)		16,50	13,58	21,02	42,39	53,89
χ^2		11,68 ^{n.s}	11,54 ^{n.s}	5,02 ^{n.s}	11,23 ^{n.s}	7,34 ^{n.s}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 4 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de germacreno A, γ -cadineno, cubebol, δ cadideno e germacreno B presentes no óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	germacreno A	γ -cadineno	cubebol	δ cadideno	germacreno B
Meses do	4	11,70**	4,84**	2,74**	85,23**	25,52**
Residuo	10	0,02	0,05	0,09	0,701	0,32
CV(%)		8,78	15,79	24,01	10,11	18,49
χ^2		11,05 ^{n.s}	6,24 ^{n.s}	8,51 ^{n.s}	7,30 ^{n.s}	6,89 ^{n.s}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 5 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de espatulenol, óxido de cariofileno, epóxido II humuleno, 1 epi cubenol, epi- α adinol e α -cadinol presentes no óleo essencial de folhas frescas de *C. sylvestris* coletadas em cinco meses dos anos 2007 e 2008.

QUADRADO MÉDIO							
Fator de variação	G. L.	espatulenol	óxido de cariofileno	epóxido II humuleno	1 epi cubenol	epi- α adinol	α cadinol
Meses	4	0,79**	0,62**	0,71**	4,52**	5,59**	10,57**
Residuo	10	0,43	0,07	0,18	0,19	0,02	0,25
CV(%)		37,45	38,93	44,52	25,39	7,08	19,42
χ^2		5,02 ^{n.s.}	12,48 ^{n.s.}	8,94 ^{n.s.}	9,03 ^{n.s.}	6,72 ^{n.s.}	11,18 ^{n.s.}

* Significativo a 05% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 6 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de δ elemeno, α cubebeno, ciclosativeno, α -copaeno e β bourboneno presentes no óleo essencial de de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de *C. sylvestris* coletadas em junho/2009.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	δ elemeno	α cubebeno	ciclosativeno	α -copaeno	β bourboneno
Secagem	3	0,097**	98,15**	0,091 ^{n.s.}	5,84**	2,57**
Residuo	8	0,003	0,002	0,051	0,032	0,16
CV(%)		28,05	1,31	157,157	4,28	18,89
χ^2		4,58 ^{n.s.}	2,63 ^{n.s.}	10,30 ^{n.s.}	12,97 ^{n.s.}	4,63 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 7 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de β elemeno, α gurjuneno, trans-cariofileno, β gurjuneno e α -guaieno presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de *C. sylvestris* coletadas em junho/2009.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	β elemeno	α gurjuneno	trans-cariofileno	β gurjuneno	α -guaieno
Secagem ano	3	6,04**	0,072**	5,58**	0,41**	0,08**
Residuo	8	0,86	0,004	0,38	0,05	0,05
CV(%)		21,59	66,28	6,56	10,36	12,84
χ^2		8,09 ^{n.s}	5,98 ^{n.s}	3,13 ^{n.s}	5,25 ^{n.s}	9,64 ^{n.s}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 8 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de α humuleno, seicheleno, γ -muuroleno, germacreno D e β selineno presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de *C. sylvestris* coletadas em junho/2009.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	α humuleno	seicheleno	γ -muuroleno	germacreno D	β -selineno
Secagem	3	1,16*	0,56**	2,10**	15,30*	1,11**
Residuo	8	0,04	0,05	0,01	2,06	0,12
CV(%)		14,99	15,64	9,45	12,59	42,58
χ^2		4,00 ^{n.s}	5,34 ^{n.s}	7,40 ^{n.s}	3,01 ^{n.s}	6,63 ^{n.s}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 9- Resultados da análise de variância para a porcentagem de e biciclogermacreno, α -bulneseno, germacreno A, γ -cadineno e cubebol, presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de *C. sylvestris* coletadas em junho/2009.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G.L.	biciclo germacreno	α -bulneseno	germacreno A	γ -cadineno	cubebol
Meses	3	54,72**	0,10**	0,78**	0,16**	21,66**
Residuo	8	3,65	0,002	0,001	0,02	0,003
CV(%)		10,26	30,51	3,50	26,14	6,95
χ^2		6,48 ^{n.s.}	4,62 ^{n.s.}	0,41 ^{n.s.}	7,08 ^{n.s.}	13,55 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 10- Resultados da análise de variância para a porcentagem de δ cadideno, germacreno B, espatulenol, óxido de cariofileno, guaiol e epóxido II humuleno, presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de *C. sylvestris* coletadas em junho/2009.

QUADRADO MÉDIO							
Fator de variação	G. L.	δ -cadineno	germacreno B	espatulenol	óxido cariofileno	guaiol	epóxidoII humuleno
Meses do	3	21,77**	0,32**	14,21**	6,63**	6,52**	0,43**
Residuo	8	0,46	0,014	0,93	0,01	0,04	0,003
CV(%)		6,73	19,01	25,39	7,42	7,57	10,67
χ^2		0,20 ^{n.s.}	11,27 ^{n.s.}	6,01 ^{n.s.}	6,72 ^{n.s.}	2,24 ^{n.s.}	1,63 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 11 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de 1 epi cubenol, epi- α -cadinol, α -cadinol, bulnesol e thunbergol presentes no óleo essencial de folhas frescas, secas a 40 °C e 60 °C e ar ambiente de *C. sylvestris* coletadas em junho/2009.

Fator de variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO				
		1epicubenol	epi- α -cadinol	α -cadinol	bulnesol	thunbergol
Secagem	3	0,58**	0,78*	1,16**	6,59**	112,63**
Residuo	8	0,002	1,17	0,24	0,007	0,60
CV(%)		7,75	27,47	31,89	10,07	8,90
χ^2		4,78 ^{n.s.}	6,69 ^{n.s.}	3,48 ^{n.s.}	9,70 ^{n.s.}	4,25 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 12 - Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade, porcentagem de folhas retidas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 e avaliadas aos 150 dias.

Fator de variação	Graus de liberdade	QUADRADO MÉDIO				
		Estacas enraizadas (%)	Est. c/calos e s/raiz (%)	Estacas vivas (%)	Estacas mortas(%)	folhas retidas (%)
AIB	3	10,41*	1,41 ^{n.s.}	0,23 ^{n.s.}	13,90*	23,33 ^{n.s.}
Residuo	16	2,04	2,45	0,13	2,60	12,41
C.V.(%)		27,88	50,17	4,3	50,6	23,89
χ^2		1,06 ^{n.s.}	1,38 ^{n.s.}	8,08 ^{n.s.}	0,50 ^{n.s.}	0,22 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 13 - Resultados da análise de variância para as variáveis número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final da primavera/2007 avaliadas aos 150 dias.

QUADRADO MÉDIO				
Fator de variação	Graus de Liberdade	Nº de raízes por estaca	Comprimento 3 maiores raízes (cm)	Massa seca das raízes (mg) ²
AIB	3	6,68 ^{n.s.}	2,27 ^{n.s.}	0,07 ^{n.s.}
Residuo	16	2,61	2,05	0,03
C.V.(%)		36,24	28,83	20,88
χ^2		0,91 ^{n.s.}	6,63 ^{n.s.}	1,89 ^{n.s.}

n.s. não significativo

Anexo 14 - Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas vivas (sem raízes e. com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliados aos 90 dias.

QUADRADO MÉDIO					
Fator de variação	Graus de Liberdade	Est. com calo e sem raiz (%)	Estacas vivas (%)	Estacas mortas(%)	Est.com folhas retidas (%)
AIB	3	5,90	3,57 ^{n.s.}	3,50 ^{n.s.}	13,23 [*]
Residuo	16	1,10	2,06	1,29	2,90
C.V.(%)		20,26	19,64	32,47	9,55
χ^2		0,59 ^{n.s.}	1,79 ^{n.s.}	2,34 ^{n.s.}	0,65 ^{n.s.}

n.s. não significativo

* Significativo ao 5% de probabilidade

Anexo 15 - Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas enraizadas, vivas (sem raízes e com ou sem calos), mortalidade e porcentagem de folhas retidas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.

Fator de variação	Graus de liberdade	QUADRADO MÉDIO				
		Estacas enraizadas (%)	Est. c/calos e s/raiz (%)	Estacas vivas (%)	Estacas mortas(%)	folhas retidas (%)
AIB	3	0,73**	7,17 **	4,56 ^{n.s.}	20,23 **	5,82**
Residuo	16	0,10	0,84	1,56	1,48	0,42
C.V.(%)		71,52	36,70	32,79	13,24	44,94
χ^2		11,34 ^{n.s.}	6,64 ^{n.s.}	2,46 ^{n.s.}	0,22 ^{n.s.}	9,39 ^{n.s.}

** Significativo ao 1% de probabilidade
n.s. não significativo

Anexo 16 - Resultados da análise de variância para as variáveis número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes, massa seca das raízes de estacas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), no final do verão/2008 e avaliadas aos 240 dias.

Fator de variação	Graus de Liberdade	QUADRADO MÉDIO		
		Nº de raízes por estaca	Comprimento 3 maiores raízes (cm)	Massa seca das raízes (mg) ²
AIB	3	35,4 **	9,43**	0,06**
Residuo	16	0,02	0,03	0,07
C.V.(%)		6,82	15,66	95,45
χ^2		10,16 ^{n.s.}	8,67 ^{n.s.}	6,25 ^{n.s.}

** Significativo ao 1% de probabilidade
n.s. não significativo

Anexo 17- Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de estacas vivas sem calos e sem raízes, porcentagem de folhas e mortalidade em estacas *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no final do outono/2007 e no final do inverno/2007 e avaliadas aos 90 dias.

QUADRADO MÉDIO							
		Outono			Inverno		
Fator de variação	G.L.	Est. vivas (%)	Folhas retidas (%)	Mortalidade (%)	Est. vivas (%)	Folhas retidas (%)	Mortalidade (%)
AIB	3	17,17 **	2,06 ^{n.s.}	19,22 ^{n.s.}	3,40 ^{n.s.}	8,80 **	3,40 ^{n.s.}
Residuo	16	1,83	1,68	1,73	0,03	0,01	2,06
C.V.(%)		34,56	29,27	10,79	16,36	4,55	9,61
χ^2		3,28 ^{n.s.}	0,015 ^{n.s.}	4,57 ^{n.s.}	10,25 ^{n.s.}	6,99 ^{n.s.}	0,66 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade
n.s. não significativo

Anexo 18 - Resultados da análise de variância para as variáveis porcentagem de enraizamento, número de raízes, comprimento das 3 maiores raízes, porcentagem de folhas retidas e mortalidade de estacas de brotações de plantas adultas de *C. sylvestris*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) e avaliadas aos 180 dias.

QUADRADO MÉDIO						
Fator de variação	G. L.	Est.enraizadas (%)	Nº raízes	Comprimento das 3 maiores raízes (cm)	% folhas	Estacas mortas (%)
AIB	3	11,5 ^{n.s.}	8,3 ^{n.s.}	0,3 ^{n.s.}	4,1 ^{n.s.}	10,2 ^{n.s.}
Residuo	12	10,7	33,2	0,5	39,4	9,5
CV(%)		31,9	24,1	27,8	35,9	57
χ^2		5,94 ^{n.s.}	9,47 ^{n.s.}	5,58 ^{n.s.}	7,30 ^{n.s.}	7,59 ^{n.s.}

n.s. não significativo

Anexo 19 - Resultados da análise de variância para as variáveis estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento médio das 3 maiores raízes (cm), massa seca das raízes (mg) provenientes de brotações de decepta e de poda de *C. sylvestris* com 3 concentrações de AIB.

QUADRADO MÉDIO					
Fator de variação	Graus de Liberdade	Estacas enraizadas (%)	Número de raízes por estaca	Comprimento das 3 maiores raízes (mm)	Massa seca (mg)
Tipo de Regulador	2	25,39**	15,68**	5,27**	0,03*
P x R	2	138,67**	92,53**	23,69**	0,18**
Erro	4	65,39**	36,80**	7,35**	0,10**
	45	3,09	2,01	0,77	0,01
CV(%)		16,07	28,26	32,09	35,61
(χ^2)		12,28 ^{n.s.}	14,35 ^{n.s.}	10,03 ^{n.s.}	5,40 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 20 - Resultados da análise de variância para as variáveis número de folhas, estacas vivas (sem raízes e com ou sem calos) e estacas mortas provenientes de brotações de decepta e de poda de *C. sylvestris* com 3 concentrações de AIB.

QUADRADO MÉDIO					
Fator de variação	Graus de Liberdade	Número de folhas	Est. c/ calos e s/ raízes (%)	Est. Vivas (%)	Estacas mortas (%)
Tipo de Poda (P)	2	13,41 ^{n.s.}	0,91 ^{n.s.}	17,06**	1,69 ^{n.s.}
Regulador (R)	2	89,80*	3,69*	10,06**	53,69**
P x R	4	82,74**	2,30 ^{n.s.}	11,53**	19,88**
Erro	45	19,14	0,92	1,14	2,87
CV(%)		20,74	126,48	58,16	68,79
(χ^2)		4,63 ^{n.s.}	9,46 ^{n.s.}	12,55 ^{n.s.}	11,07 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 21 - Resultados da análise de variância para as variáveis miniestacas enraizadas, número de raízes por miniestaca, comprimento médio das 3 maiores raízes, massa seca das raízes (mg) em miniestacas de *C. sylvestris* em três meses do ano com três concentrações de AIB.

Fator de variação	Graus de Liberdade	QUADRADO MÉDIO			
		Estacas enraizadas (%)	Número de raízes	3 maiores raízes (mm)	Massa seca (mg)
Tipo de Poda	2	9,53*	12,10**	2,39**	2745,53 **
Regulador (R)	3	5,22 n.s.	7,19**	0,60**	727,66 *
P x R	6	2,52 n.s.	0,53 n.s.	0,44**	336,05 n.s.
Erro	24	2,44	2,87	0,07	162,75
CV(%)		11,49	13,92	17,82	34,35
(χ^2)		10,58 ^{n.s.}	23,73 ^{n.s.}	7,35 ^{n.s.}	19,35 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 22 - Resultados da análise de variância para as variáveis número de folhas, miniestacas brotadas, miniestacas vivas (sem raízes e com ou sem calos) de *C. sylvestris* em três meses do ano com três concentrações de AIB.

Fator de variação	Graus de Liberdade	QUADRADO MÉDIO			
		Número de folhas	Miniést. brotadas(%)	Miniést. c/ calos e s/ raízes (%)	Miniést. s/ calos e s/ raízes (%)
Tipo de Poda (P)	2	8,36 n.s.	74,78 **	9,36 n.s.	0,78 n.s.
Regulador (R)	2	14,18 **	15,66*	7,58 n.s.	2,00 n.s.
P x R	4	3,73 **	7,85 n.s.	2,47 n.s.	1,56 n.s.
Erro	45	0,94	4,00	2,89	1,25
CV(%)		3,39	27,80	28,26	201,24
(χ^2)		6,16 ^{n.s.}	9,94 ^{n.s.}	5,94 ^{n.s.}	8,66 ^{n.s.}

* Significativo ao 5% de probabilidade

** Significativo ao 1% de probabilidade

n.s. não significativo

Anexo 23 - Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período maio de 2007 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica do município de Pinhais-PR e fornecidas pelo SIMEPAR, 2010.

Mês/Ano	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)		
		Média	Média das mínimas	Média das máximas
Mai/07	153,6	14,4	11,6	19,9
Jun/07	11,4	15,5	11,4	22,6
Jul/07	122,2	12,9	8,7	19,6
Ago/07	12,8	14,7	11,0	21,8
Set/07	87,4	17,1	13,3	25,4
Out/07	121,0	17,7	15,1	24,9
Nov/07	119,2	17,9	14,8	24,7
Dez/07	188,2	20,0	17,2	26,6
Jan/08	147,2	19,1	17,2	24,6
Fev/08	65,8	20,0	17,6	26,6
Mar/08	88,0	19,3	17,0	25,4
Abr/08	126,4	17,3	14,5	23,8
Mai/08	58,6	14,5	11,2	21,1
Jun/08	119,0	13,3	10,1	19,6
Jul/08	26,0	14,8	10,5	22,6
Ago/08	133,6	15,2	12,3	21,6
Set/08	41,8	14,0	11,0	20,5
Out/08	223,0	17,3	14,8	23,2
Nov/08	84,2	17,3	15,5	23,3
Dez/08	60,8	18,7	15,7	26,3
Jan/09	116,0	19,0	17,1	25,7
Fev/09	162,0	19,0	17,9	27,1
Mar/09	122,0	18,8	17,3	27,1
Abr/09	12,2	16,0	14,7	24,0
Mai/09	41,6	14,0	12,3	21,5
Jun/09	70,2	10,1	8,0	18,2
Jul/09	265,4	10,0	9,9	17,2
Ago/09	102,0	12,9	10,3	21,6
Set/09	272,4	13,9	12,9	21,1
Out/09	163,6	15,9	13,4	22,6
Nov/09	213,8	21,4	17,9	28,3
Dez/09	233,4	20,2	17,3	26,8
Jan/10	518,8	20,7	18,1	26,7
Fev/10	206,4	22,0	18,7	28,6
Mar/10	216,2	20,0	16,7	26,3
Abr/10	306,2	17,2	13,3	23,7
Mai/10	103,2	14,6	11,3	20,7

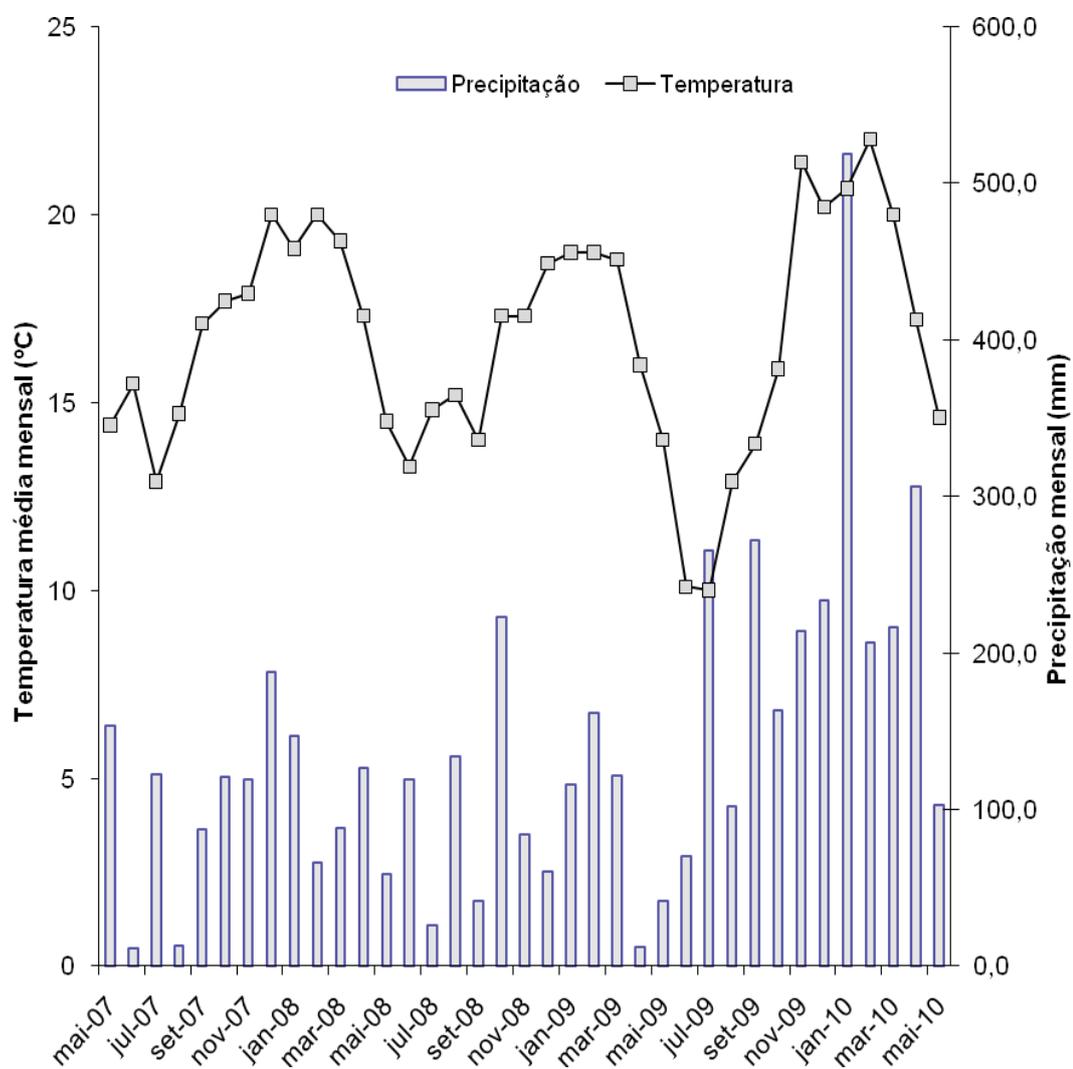
FONTE: SIMEPAR (Sistema Meteorológico do Paraná), 2010

Anexo 24 - Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período maio de 2007 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2010.

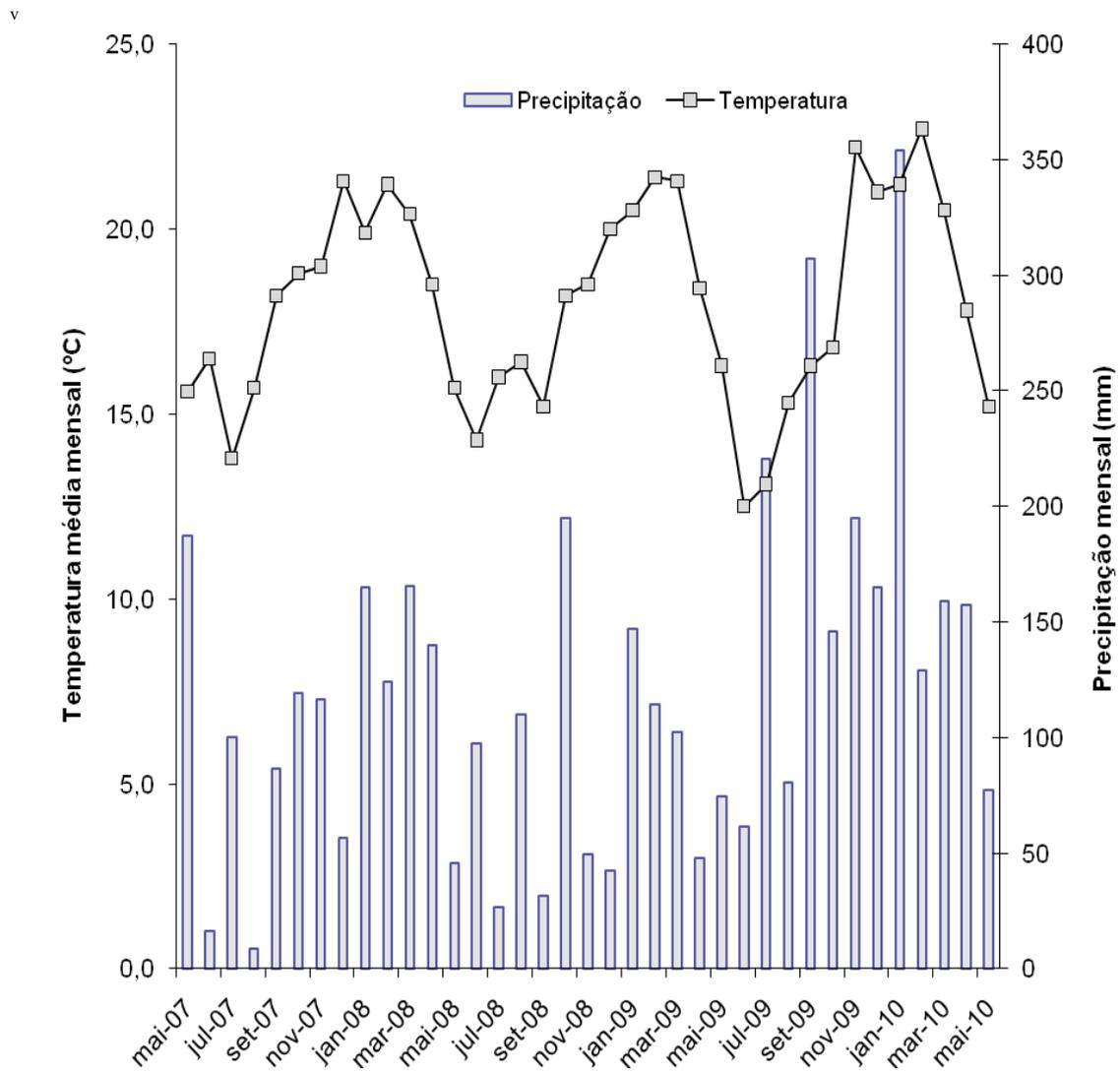
Mês/Ano	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)		
		Média	Média das mínimas	Média das máximas
Mai/07	187,4	15,6	10,3	19,9
Jun/07	16,3	16,5	10,0	22,5
Jul/07	100,0	13,8	7,8	19,3
Ago/07	8,6	15,7	9,8	21,4
Set/07	86,4	18,2	12,1	24,7
Out/07	119,4	18,8	14,0	24,1
Nov/07	116,8	19,0	13,7	24,0
Dez/07	56,4	21,3	15,8	26,8
Jan/08	165,2	19,9	16,3	23,8
Fev/08	124,0	21,2	16,3	25,9
Mar/08	165,6	20,4	15,7	24,8
Abr/08	140,2	18,5	13,2	23,2
Mai/08	46,0	15,7	10,0	20,4
Jun/08	97,6	14,3	8,8	19,0
Jul/08	26,6	16,0	9,3	22,0
Ago/08	109,8	16,4	11,1	20,7
Set/08	31,4	15,2	10,0	19,6
Out/08	194,8	18,2	13,9	22,3
Nov/08	49,8	18,5	14,4	22,3
Dez/08	42,6	20,0	14,2	25,3
Jan/09	146,8	20,5	15,5	24,7
Fev/09	114,2	21,4	15,7	24,8
Mar/09	102,6	21,3	14,8	24,5
Abr/09	48,0	18,4	12,3	21,8
Mai/09	74,6	16,3	9,9	19,3
Jun/09	61,8	12,5	5,8	16,0
Jul/09	220,8	13,1	7,7	15,0
Ago/09	80,4	15,3	7,9	19,2
Set/09	307,4	16,3	10,6	18,9
Out/09	145,8	16,8	12,1	21,9
Nov/09	194,8	22,2	17,3	28,1
Dez/09	164,8	21,0	16,6	26,5
Jan/10	354,2	21,2	17,6	26,7
Fev/10	129,2	22,7	18,2	28,2
Mar/10	159,2	20,5	16,6	25,6
Abr/10	157,6	17,8	13,1	23,0
Mai/10	77,4	15,2	11,0	19,9

FONTE: SIMEPAR (Sistema Meteorológico do Paraná), 2010

Anexo 25 - Gráfico das precipitações e temperaturas médias mensais, no período de maio de 2007 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica de Pinhais- PR e fornecidas pelo SIMEPAR, 2010.



Anexo 26 - Gráfico das precipitações e temperaturas médias mensais, no período de maio de 2007 a maio de 2010, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2010.



Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)