

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCIELE MILANI ZEM

***Drimys brasiliensis*: Propagação vegetativa, composição química do óleo
essencial e infusão alcóolica de folhas**

CURITIBA

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCIELE MILANI ZEM

***Drimys brasiliensis*: Propagação vegetativa, composição química do óleo
essencial e infusão alcóolica de folhas**

Dissertação 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 parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof^a. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas

Co-Orientadores: Prof. Dr. Henrique Soares Koehler
Dra. Maria Izabel Radomski

CURITIBA

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
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 Dissertação de MESTRADO, apresentada pela candidata **LUCIELE MILANI ZEM**, sob o título **"*Drimys brasiliensis*: PROPAGAÇÃO VEGETATIVA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL E INFUSÃO ALCOÓLICA DE FOLHAS"**, para obtenção do grau de Mestre 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 arguido a candidata são de parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Dissertação.

Curitiba, 17 de Fevereiro de 2014.

Professora Dra. Louise Larissa May De Mío
Coordenadora do Programa

Professora Dra. Cynthia Maria Wachowicz
Primeira Examinadora

Dra. Maria Izabel Radomski
Segunda Examinadora

Professor Dr. Henrique Soares Koehler
Terceiro Examinador

Professora Dra. Katia Christina Zuffellato Ribas
Presidente da Banca e Orientadora

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.” (Chico Xavier)

DEDICO

À Deus, por sempre caminhar ao meu lado.

Aos meus pais, Leonardo e Edna Zem, por estarem sempre presentes e me apoiarem na realização dos meus sonhos.

Aos meus irmãos, Lessandro, Liana e Larissa Zem, pela compreensão e ajuda para mais essa conquista.

Ao meu namorado, Paulo Schultz, pelo amor e paciência.

AGRADECIMENTOS

À Deus por estar ao meu lado me iluminando e me proporcionar a dádiva de poder desfrutar do meu maior presente: a vida.

À minha família meus pais, Leonardo e Edna Zem, meus irmãos Lessandro, Liana e Larissa Zem, por todo amor, carinho, compreensão, paciência e incentivo para a realização de mais essa conquista.

Ao Paulo Roberto Martins Schultz Filho, meu grande amor, pela sua compreensão, paciência, respeito e dedicação.

À minha orientadora Profa. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas e sua família por terem me acolhido e confiado a mim este projeto. Agradeço pelos grandes ensinamentos a que me proporcionou, dedicação e atenção oferecida a mim e, principalmente, pela amizade construída. Ao longo desses dois anos, conheci uma amiga sensacional, competente, querida e dedicada, um exemplo não só como profissional, mas também como mulher. Você tornou-se muito especial em minha vida.

Aos meus co-orientadores Prof. Dr. Henrique Soares Koehler e Dra. Maria Izabel Radomski pela parceria, auxílio, sugestões e ensinamentos durante a realização desse trabalho.

À todos as amizades construídas nestes dois anos: Alex C. Pimenta, Arthur H. Weiser, Bárbara G. A. Ferreira, Carlos A. Stuepp, Ernani A. O. Mossanek, Helena Cristina Rickli, Isabelle Lourenço de Almeida, Rodrigo Nicknich pela amizade, sugestões, incentivos e auxílios que de alguma forma enriqueceram meu trabalho.

À Prof^a Dra. Cleusa Bona e ao técnico Nilson Belém Filho pelo auxílio nas análises anatômicas.

Ao Prof. Dr. Agenor Maccari Junior e Fabíula Melissa Stela pela ajuda, orientação, incentivo e participação para a realização do projeto de desenvolvimento da cachaça de cataia.

Ao Prof. Dr. Cícero Deschamps e Gilnei Machado Rocha pela ajuda para o desenvolvimento e entendimento do óleo essencial extraído das folhas de cataia.

Aos amigos da Embrapa Florestas Décio, Harry, Joel, Nide, Paulino e Vero pela inestimável contribuição, auxílio, ensinamentos passados durante os experimentos e pela grande amizade construída a cada dia.

RESUMO

Drimys brasiliensis Miers, pertencente à família Winteraceae, conhecida popularmente como cataia, é uma espécie nativa da Mata Atlântica. Devido ao pouco conhecimento sobre a sua propagação, a presente dissertação teve como objetivos verificar a viabilidade da propagação vegetativa da espécie por meio de estaquia de brotações do ano coletadas nas quatro estações com o uso de ácido indol butírico (IBA), verificar o enraizamento de estacas confeccionadas com a presença e ausência de folhas no outono/2012, verificar o enraizamento de estacas de brotações epicórmicas e do ano no verão/2013, bem como o enraizamento de miniestacas nas quatro estações do ano. Foi verificada ainda a composição do óleo essencial presente em folhas da cataia, bem como a análise sensorial de cachaça com a infusão de folhas de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum. Para a propagação vegetativa via estaquia de *Drimys brasiliensis*, foram utilizados os tratamentos com 0, 500, 1500, 3000, 4500 e 6000 mg L⁻¹IBA, exceto para o experimento de miniestacas. Para o experimento de estaquia coletada nas quatro estações do ano foram utilizadas estacas semilenhosas sendo que no inverno/2012 as estacas apresentaram melhor enraizamento (46,96%) e menor porcentagem de estacas mortas (11,07%). Para o experimento de enraizamento com estacas confeccionadas com duas folhas, uma folha e sem folhas coletadas no outono/2012, a aplicação de IBA influenciou as variáveis porcentagem de estacas com calos e brotadas e as estacas com duas folhas apresentaram melhor enraizamento (51,07%) e menor porcentagem de mortalidade (5,35%). O experimento de estaquia caulinar herbácea e semilenhosa no verão/2013 apresentou melhor enraizamento com o uso de estacas herbáceas (32,67%). Para o experimento com a utilização de miniestacas, o material proveniente de mudas transplantadas não se mostrou viável para a produção de mudas nas quatro estações do ano, visto que em todas as épocas houve um baixo enraizamento. Para todos os experimentos de propagação vegetativa de *Drimys brasiliensis* foram realizadas análises anatômicas da base das estacas, e não foram observadas diferenças anatômicas que justificassem a maior ou menor emissão de novas raízes. Para o experimento de extração do óleo essencial de *Drimys brasiliensis*, foram coletadas folhas frescas e secas sendo que no óleo de folhas frescas foram identificados 65,0% de sesquiterpenos e 12,0% de monoterpenos e, no óleo de folhas secas identificou-se 76,1% de sesquiterpenos e 2,0% de monoterpenos. Para o experimento com o uso de folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* e folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* para a produção de aguardente composta, utilizou-se 1, 2 e 4 g L⁻¹ e cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool, 39,0% de álcool e aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool em quatro tempos de 30, 60, 90 e 120 dias. A cachaça com 4 g L⁻¹ de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* foi a melhor aceita pelo consumidor. Os diferentes teores alcóolicos de cachaça com e sem a infusão de folhas secas de *Drimys brasiliensis* foram igualmente aceitos pelo consumidor.

Palavras-chave: Cataia; propagação; estaquia; auxina; nativa; anatomia; óleo essencial.

ABSTRACT

Drymis brasiliensis Miers, belonging to the Winteraceae family, commonly known as cataia or pepper bark, is a species native to the Atlantic Rainforest. Due to little knowledge about its propagation, this work aimed to verify the viability of vegetative propagation of the species through cuttings from current-year shoots, collected in the four seasons, using indolebutyric acid (IBA), to verify rooting of cuttings prepared with and without leaves in autumn/2012, to verify rooting of cuttings from epicormic current-year shoots in summer/2013, and to verify rooting of minicuttings in the four seasons of the year. Composition of the essential oil present in pepper bark leaves was also verified and a sensory analysis was performed on “cachaça” (sugarcane spirit) with infusion of *Drymis brasiliensis* Miers and *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum leaves. For the vegetative propagation through cuttings of *Drymis brasiliensis*, treatments with 0, 500, 1500, 3000, 4500 and 6000 mg L⁻¹ IBA were applied, except for the minicuttings experiment. Semihardwood cuttings were used for the experiment with cuttings collected in the four seasons of the year, resulting in the best rooting percentage in winter/2012 (46.96%) and the lowest percentage of dead cuttings (11.07%) for the same season. For the rooting experiment with cuttings, prepared with two leaves, one leaf and without leaves, collected in autumn/2012, the application of IBA had influence variables percentages of cuttings with callus and sprouting. Cuttings with two leaves presented the best rooting percentage (51.07%) and the lowest mortality percentage (5.35%). The stem cuttings experiment with semihardwood and softwood cuttings in summer/2013 showed better rooting using softwood cuttings (32.67%). For the experiment with the use of minicuttings, material coming from transplanted seedlings was not viable for the vegetative propagation in the four seasons of the year, since in all the seasons there was a low rooting percentage. Anatomical analysis of the bases was performed on cuttings of all the vegetative propagation experiments with *Drymis brasiliensis*, and there were no observed anatomical differences able to justify a bigger or smaller new roots formation. For the essential oil extraction experiment from *Drymis brasiliensis*, dry and green leaves were collected. In the oil from green leaves, 65% sesquiterpenes and 12% monoterpenes were identified, while the percentage for dry leaves was 76.1% sequiterpenes and 2.0% monoterpenes. For the experiment with infusion of dry and green leaves of *Drymis brasiliensis* and dry leaves of *Pimenta pseudocaryophyllus*, to produce flavored sugarcane spirit, quantities used for leaves were 1, 2 and 4 g L⁻¹ into not aged “cachaça” with 47.5% and 39.0% alcohol content, and into not aged “aguardente” with 39% alcohol content, during four periods of 30, 60, 90 and 120 days. “Cachaça” with 4 g L⁻¹ of *Pimenta pseudocaryophyllus* dry leaves was the one most appreciated by consumers. Different alcohol content cachaça with and without infusion of *Drymis brasiliensis* dry leaves also obtained a good acceptance from consumers.

Key words: Cataia; pepper bark; propagation; cuttings; auxin; native species; anatomy; essential oil.

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS.....	12
	LISTA DE TABELAS.....	16
1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	21
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1.	CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DA ESPÉCIE.....	23
2.2.	PROPAGAÇÃO VEGETATIVA VIA ESTAQUIA.....	26
2.3.	FATORES RELACIONADOS AO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS	28
2.4.	REGULADORES VEGETAIS.....	30
2.5.	ÓLEO ESSENCIAL.....	31
2.6.	AGUARDENTE.....	33
3.	CAPÍTULO I: ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS COM E SEM FOLHAS DE <i>Drimys brasiliensis</i> Miers ORIUNDAS DE BROTAÇÕES DO ANO.....	35
3.1.	INTRODUÇÃO.....	37
3.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.2.1.	Estaquia.....	40
3.2.2.	Análises anatômicas.....	42
3.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
3.3.1.	Estaquia.....	45
3.3.2.	Análises anatômicas.....	54
3.4.	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58
4.	CAPÍTULO II: ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS DE <i>Drimys brasiliensis</i> Miers ORIUNDAS DE BROTAÇÕES DO ANO NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO.....	63
4.1.	INTRODUÇÃO.....	65
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	67
4.2.1.	Estaquia.....	67
4.2.2.	Análises anatômicas.....	70
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
4.3.1.	Estaquia.....	71

4.3.2.	Análises anatômicas.....	76
4.4.	CONCLUSÕES.....	79
	REFERÊNCIAS.....	80
5.	CAPÍTULO III: ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES HERBÁCEAS E SEMILENHOSAS DE <i>Drimys brasiliensis</i> Miers COLETADAS NO VERÃO.....	84
5.1.	INTRODUÇÃO.....	86
5.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	88
5.2.1.	Estaquia.....	88
5.2.2.	Análises anatômicas.....	91
5.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	92
5.3.1.	Estaquia.....	92
5.3.2.	Análises anatômicas.....	100
5.4.	CONCLUSÕES.....	103
	REFERÊNCIAS.....	104
6.	CAPÍTULO IV: ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS CAULINARES DE <i>Drimys brasiliensis</i> Miers NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO.....	109
6.1.	INTRODUÇÃO.....	111
6.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	113
6.2.1.	Miniestaquia.....	113
6.2.2.	Análises anatômicas.....	115
6.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	117
6.3.1.	Miniestaquia.....	117
6.3.2.	Análises anatômicas.....	123
6.4.	CONCLUSÕES.....	125
	REFERÊNCIAS.....	126
7.	CAPÍTULO V: CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE <i>Drimys brasiliensis</i> Miers.....	129
7.1.	INTRODUÇÃO.....	131
7.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	133
7.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	135
7.4.	CONCLUSÕES.....	141

	REFERÊNCIAS.....	142
8.	CAPÍTULO VI: USO DE <i>Drimys brasiliensis</i> Miers e <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> PARA PRODUÇÃO DE AGUARDENTE COMPOSTA.....	149
8.1.	INTRODUÇÃO.....	151
8.2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	153
8.2.1.	Preparação das amostras.....	153
8.2.2.	Análises sensoriais.....	159
8.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	164
8.3.1.	Leitura de Acidez - 1º Experimento.....	164
8.3.2.	Leitura de Acidez - 2º Experimento.....	166
8.3.3.	Leitura de Cor - 1º Experimento.....	167
8.3.4.	Leitura de Cor - 2º Experimento.....	169
8.3.5.	Análise Sensorial - 1º Experimento.....	171
8.3.6.	Análise Sensorial - 2º Experimento.....	172
8.4.	CONCLUSÕES.....	174
	REFERÊNCIAS.....	175
9.	CONCLUSÕES GERAIS.....	178
	REFERÊNCIAS.....	180

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Planta matriz. B. Estaca semilenhosa com a presença de duas folhas. C. Estaca semilenhosa com a presença de uma folha. D. Estaca semilenhosa sem folhas. E. Experimento instalado com duas folhas. F. Experimento instalado com uma folha. G. Experimento instalado sem folhas.....	41
Figura 3.2	Análises anatômicas de <i>Drimys brasiliensis</i> : A. Corantes utilizados para a realização das análises anatômicas. B. Cortes submergidos em placa de petri com água destilada. C. Cortes de 20 µm de espessura D. Montagem das lâminas semi-permanentes.....	44
Figura 3.3	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Estaca confeccionada com duas folhas e enraizada. B. Estaca confeccionada com uma folha e enraizada. C. Estaca confeccionada sem folhas e enraizada. D. Estaca brotada. E. Estaca viva com a presença de calos. F. Estaca morta. G. Estaca com calo e raiz. H. Estaca viva com brotação. I. Estaca viva.....	47
Figura 3.4	Secções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas de <i>Drimys brasiliensis</i> coletadas no momento da avaliação: A. Não há presença de amido. B. Presença de lipídeos. C. Presença de compostos fenólicos. D. Vista geral do corte: floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereídes (Es).....	56
Figura 4.1	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Planta matriz. B. Estaca semilenhosa. C. Experimento instalado D. Imersão das estacas no IBA.....	68
Figura 4.2	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Estaca enraizada, confeccionada no outono/2012. B. Estaca enraizada, confeccionada no inverno/2012. C. Estaca enraizada, confeccionada na primavera/2012. D. Estaca enraizada, confeccionada no verão/2013. E. Estaca com calo e enraizada. F. Estaca viva. G. Estaca morta. H. Detalhe da brotação em estaca.....	71

Figura 4.3	Secções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas de <i>Drimys brasiliensis</i> : A. Não há presença de amido. B. Presença de lipídeos. C. Presença de compostos fenólicos. D. Vista geral do corte: epiderme (Ep), floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereídes (Es). E. Provável emissão da raiz pelo câmbio.....	78
Figura 5.1	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Planta matriz. B. Brotações epicórmicas. C. Imersão das estacas no IBA. D. Experimento instalado. E. Estaca semilenhosa. F. Estaca herbácea.....	90
Figura 5.2	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Estaca herbácea e enraizada. B. Estaca semilenhosa e enraizada. C. Calos. D. Estaca com calos e enraizada. E. Detalhe de brotação em estaca.....	93
Figura 5.3	Secções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas e herbáceas de <i>Drimys brasiliensis</i> coletadas no verão/2013: A. Não há presença de amido. B. Presença de lipídeos. C. Presença de compostos fenólicos. D. Vista geral do corte: floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereídes (Es).....	102
Figura 6.1	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Muda transplantada. B. Miniestaca. C. Experimento instalado. D. Casa de Vegetação da Embrapa Florestas.....	115
Figura 6.2	<i>Drimys brasiliensis</i> : A. Miniestaca confeccionada no inverno e enraizada. B. Miniestaca confeccionada na primavera e enraizada. C. Miniestaca confeccionada no verão e enraizada. D. Miniestaca confeccionada no outono e enraizada. E. Miniestaca com brotação. F. Detalhe de calos em miniestaca. G. Miniestaca viva. H. Miniestaca morta. I. Miniestaca com calos.....	119
Figura 6.3	Secções transversais da base de miniestacas caulinares de <i>Drimys brasiliensis</i> coletadas nas quatro estações do ano: A. Não há presença de amido. B. Presença de lipídeos. C. Presença de compostos fenólicos. D. Vista geral do corte: floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereídes (Es).....	124

- Figura 7.1 Extração de óleo essencial de *Drimys brasiliensis*: **A.** Folhas picadas. **B.** Pesagem das folhas. **C.** Folhas dentro do balão volumétrico. **D.** Adição de água no balão volumétrico. **E.** Balões no equipamento tipo Clevenger. **F.** Fervura do material. **G.** Material dentro da centrífuga. **H.** Óleo extraído..... 134
- Figura 8.1 Preparação das cachaças de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum: **A.** Amostras de folhas de *Drimys brasiliensis* e *Pimenta pseudocaryophyllus* . **B.** Garrafa com as folhas. **C.** Adição da cachaça nas garrafas contendo as folhas. **D.** Folhas verdes de *Drimys brasiliensis* dentro da estufa para secagem. **E.** Peso das folhas verdes e secas. **F.** Experimento 1 e 2 recém instalado. **G.** Experimento 2 aos 120 dias após instalação. **H.** Experimento 1 aos 120 dias após instalação..... 157
- Figura 8.2 Leitura de cor e de absorbância das amostras: **A.** Espectofotômetro. **B.** Amostras em triplicata no espectofotômetro. **C.** Leitura de cor das amostras C1, C2 e C3. **D.** Leitura de cor das amostras de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* aos 120 dias. **E.** Leitura de cor das amostras de folhas secas de *Drimys brasiliensis* aos 120 dias. **F.** Leitura de cor das amostras de folhas verdes de *Drimys brasiliensis* aos 120 dias. **G.** Leitura de cor das amostras de cachaça não envelhecida com 47,5% e 39,0% de álcool e aguardente de cana, não envelhecida, com 39,0% de álcool de folhas secas de *Drimys brasiliensis* aos 120 dias..... 158
- Figura 8.3 Leitura de acidez: **A.** pHmetro. **B.** Pipetar 25 ml da amostra. **C.** Amostras em béquer **D.** Leitura de acidez com pHmetro e titulação com hidróxido de sódio a 0,05 N..... 159

Figura 8.4	Análise Sensorial: A. Amostras dentro das taças plásticas. B. Taças plásticas devidamente codificadas. C. Taças plásticas contendo 6 amostras por bandeja prontas para serem analisadas. D. Montagem da bancada com a bandeja, escala hedônica e termo de consentimento. E. Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. F. Análise sensorial.....	162
Figura 8.5	Modelo da escala hedônica para realização da análise sensorial...	163

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Resultados da análise de variância para as variáveis: estacas enraizadas (EE), número médio de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF) em três tipos de estacas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers, tratadas com ácido indol butírico (IBA), Curitiba (PR), 2012.....	46
Tabela 3.2	Comparação de médias das variáveis de estacas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas vivas (EV), mortas (EM) e que mantiveram folhas (EMF), com a presença de duas, uma e sem folha, Curitiba (PR), 2012.....	48
Tabela 3.3	Comparação de médias das variáveis estacas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas vivas (EV), mortas (EM) e que mantiveram folhas (EMF), entre os tratamentos sob diferentes concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2012.....	51
Tabela 3.4	Comparação das médias de interação da variável: estacas com calos de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers entre os fatores tipo de estaca e concentração de IBA, Curitiba (PR), 2012.....	52
Tabela 3.5	Comparação das médias de interação da variável: estacas brotadas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers entre os fatores tipo de estacas e concentração de IBA, Curitiba (PR), 2012.....	53
Tabela 4.1	Resultados da análise de variância para as variáveis de estacas semilenhosas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número médio de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, tratadas com ácido indol butírico (IBA), Curitiba (PR), 2013.....	72

Tabela 4.2	Comparação de médias das variáveis de estacas semilenhosas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, Curitiba (PR), 2013.....	73
Tabela 4.3	Comparação de médias das variáveis de estacas semilenhosas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, entre os tratamentos sob diferentes concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2013.....	76
Tabela 5.1	Resultados da análise de variância para as variáveis de estacas semilenhosas e herbáceas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número médio de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), no verão, tratadas com ácido indol butírico (IBA), Curitiba (PR), 2013.....	94
Tabela 5.2	Comparação de médias das variáveis de estacas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), no verão, entre os tipos de estacas, Curitiba (PR), 2013.....	95
Tabela 5.3	Comparação de médias das variáveis de estacas semilenhosas e herbáceas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), no verão, entre os tratamentos sob diferentes concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2013.....	97
Tabela 5.4	Comparação de médias de interação da variável número médio das três maiores raízes por estaca de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers entre os fatores tipo de estaca (semilenhosa e herbácea) e concentrações de IBA, no verão, Curitiba (PR), 2013.....	98

Tabela 5.5	Comparação de médias de interação da variável comprimento médio das três maiores raízes por estaca de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers entre os fatores tipo de estaca (semilenhosa e herbácea) e concentrações de IBA, no verão, Curitiba (PR), 2013.....	99
Tabela 6.1	Resultados da análise de variância para as variáveis de miniestacas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número médio de raízes por miniestaca (NR), comprimento médio de raízes (CMR), miniestacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, Curitiba (PR), 2013.....	118
Tabela 6.2	Comparação de médias das variáveis de miniestacas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers enraizadas (EE), número de raízes por miniestaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), miniestacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, Curitiba (PR), 2013.....	120
Tabela 7.1	Constituintes do óleo essencial de folhas frescas e secas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers, Curitiba (PR), 2012.....	136
Tabela 8.1	Descrição do primeiro experimento usando folhas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers e <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum, Curitiba (PR).....	154
Tabela 8.2	Descrição do segundo experimento usando folhas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers, Curitiba (PR).....	155
Tabela 8.3	Amostras escolhidas para a análise sensorial de infusão de aça com <i>Drimys brasiliensis</i> Miers e <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum do primeiro e segundo experimento, Curitiba (PR).....	160
Tabela 8.4	Resultados da análise de variância de leitura de acidez para as variáveis: tipos de folhas (M), quantidade de folhas (Q) e tempo de infusão (T) com a infusão de folhas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers e <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum em cachaça não envelhecida com 39% de álcool, Curitiba (PR), 2013.	165

Tabela 8.5	Comparação de médias das variáveis: quantidades de folhas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers e <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum: 1 g L ⁻¹ (Q1), 2 g L ⁻¹ (Q2) e 4 g L ⁻¹ (Q3), com a infusão de folhas em cachaça não envelhecida com 39% de álcool, para a leitura de acidez, Curitiba (PR), 2013.....	166
Tabela 8.6	Resultados da análise de variância de leitura de acidez para as variáveis: quantidade de folhas (Q) e tempo de infusão (T) com a infusão de 2 g L ⁻¹ de folhas secas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers em cachaça não envelhecida com 47,5% e 39% de álcool e aguardente de cana não envelhecida com 39% de álcool, Curitiba (PR), 2013.....	166
Tabela 8.7	Comparação de médias das variáveis: tipos de cachaça (C1, C2 e C3) e tempo de infusão (T1, T2, T3 e T4) com a infusão de 2 g L ⁻¹ de folhas secas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers, para a leitura de acidez, Curitiba (PR), 2013.....	167
Tabela 8.8	Resultados da análise de variância para as variáveis: tipos de folhas (M), quantidade de folhas (Q) e tempo de infusão (T) em cachaça não envelhecida com 39% de álcool com a infusão de folhas secas de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum e folhas secas e verdes de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.....	168
Tabela 8.9	Comparação de médias das variáveis: tipos de folhas (M1, M2 e M3) e quantidade de folhas (Q1, Q2 e Q3) com a infusão de folhas secas de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum e folhas secas e verdes de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers em cachaça não envelhecida com 39% de álcool, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.....	168
Tabela 8.10	Resultados da análise de variância para as variáveis: tipo de cachaça (C) e tempo de infusão (T) de folhas secas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers em cachaça não envelhecida com 47,5% e 39% de álcool e aguardente de cana não envelhecida com 39% de álcool, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.....	170

Tabela 8.11	Comparação de médias das variáveis: tipos de cachaça (C1, C2 e C3) com a infusão de folhas secas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.....	170
Tabela 8.12	Resultados da análise de variância para as seis amostras analisadas de cachaça não envelhecida com a infusão de folhas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers e <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum, Curitiba (PR), 2013.....	171
Tabela 8.13	Comparação de médias das variáveis de seis amostras de cachaça não envelhecida com a infusão de folha seca de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> com 1 g L ⁻¹ (M1Q1T4), folha seca de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> com 2 g L ⁻¹ (M1Q2T4), folha seca de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> com 4 g L ⁻¹ (M1Q3T4), folha seca de <i>Drimys brasiliensis</i> com 1 g L ⁻¹ (M2Q1T4), folha seca de <i>Drimys brasiliensis</i> com 2 g L ⁻¹ (M2Q2T4), folha seca de <i>Drimys brasiliensis</i> com 4 g L ⁻¹ (M2Q3T4), Curitiba (PR), 2013.....	172
Tabela 8.14	Resultados da análise de variância para as seis amostras analisadas de diferentes teores alcóolicos de cachaça não envelhecida com a infusão de 2 g L ⁻¹ de folhas seca de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers, Curitiba (PR), 2013.....	172
Tabela 8.15	Comparação de médias das variáveis de seis amostras com a infusão de 2 g L ⁻¹ de folhas de <i>Drimys brasiliensis</i> Miers: cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool (M4C1T4), cachaça não envelhecida com 39,0% de álcool (M4C2T4), aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool (M4C3T4), cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool sem a infusão de folhas (C1), cachaça não envelhecida com 39,0% de álcool sem a infusão de folhas (C2), aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool sem a infusão de folhas (C3) Curitiba (PR), 2013.....	173

1. INTRODUÇÃO GERAL

A família Winteraceae é composta por aproximadamente oito gêneros e 70 espécies, e ocorre no hemisfério Sul (JOLY, 1991; TRINTA; SANTOS, 1997). O gênero *Drimys* possui cerca de seis espécies, sendo que duas delas ocorrem no Brasil: *Drimys angustifolia* e *Drimys brasiliensis*. Esta última é popularmente conhecida como cataia, casca d'anta, canela-amarga e “caá-tuya” (TRINTA; SANTOS, 1997; BACKES; IRGANG, 2002).

Drimys brasiliensis é uma árvore com até 20 metros de altura que apresenta importância fitoquímica, sendo utilizada como matéria prima para a fabricação de um produto bioquímico chamado drimanial, o qual possui ação efetiva no combate à enxaqueca (SIMÕES et al., 1986; TRINTA; SANTOS, 1997).

Popularmente, é utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo além de possuir uma importância fitoterapêutica, onde o chá da casca é um poderoso estimulante contra desgaste físico e mental, também usado para retenção e escassez de urina e nas disenterias, além de atuar contra a prisão de ventre e diarreias (SIMÕES et al., 1986; FLORA SBS, 2011).

Além dessas utilidades, *Drimys brasiliensis* pode ainda ser um substituto da pimenta do reino, utilizando-se sua casca seca e moída. Suas folhas podem ainda ser utilizadas na infusão da cachaça ou na fabricação de licor (TRINTA; SANTOS, 1997).

A espécie possui um vasto campo de utilização, porém sabe-se que suas sementes apresentam dormência por imaturidade embrionária, fato que constitui um problema para a produção de mudas (ABREU et al., 2005). Devido à dificuldade de produção de mudas via sementes, fato que acomete uma série de espécies, a propagação vegetativa passa a ser uma técnica utilizada para a produção de mudas em larga escala, pois diminui o tempo de obtenção das mesmas e possibilita a uniformidade de enraizamento (HARTMANN et al., 2011).

Diante do interesse em ampliar as possibilidades de uso da espécie, somado ao reduzido conhecimento sobre a propagação vegetativa de *Drimys brasiliensis*, a presente dissertação teve como objetivo geral realizar um estudo sobre o estado da arte dessa espécie, somado à viabilidade da propagação vegetativa por meio de

estaquia de brotações do ano, epicórmicas e miniestaquia, visando a melhor resposta de enraizamento, caracterizar a composição do óleo essencial das folhas da espécie para verificar a quais fins poderia se designar, bem como recomendar uma utilidade prática avaliando o uso das folhas de *Drimys brasiliensis* e *Pimenta pseudocaryophyllus*, ambas popularmente conhecidas como cataia, para a produção de aguardente composta por infusão, somada aos atributos sensoriais das mesmas.

O primeiro capítulo avalia o uso de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA) no enraizamento de estacas caulinares semilenhosas oriundas de brotação do ano, coletadas na estação do outono, confeccionadas com a presença e ausência de folhas, realizando-se a descrição anatômica das mesmas para estudo de possíveis barreiras ao enraizamento.

O segundo capítulo descreve a estaquia de brotações do ano de estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis* nas quatro estações do ano, com o uso de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA), realizando-se também a descrição anatômica das mesmas para estudo de possíveis barreiras ao enraizamento.

O terceiro capítulo aborda as repostas de enraizamento de *Drimys brasiliensis* por meio da coleta de material de brotação do ano e de brotações epicórmicas, com o uso de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA) na estação do verão, com a complementação de análises anatômicas das estacas utilizadas.

O quarto capítulo apresenta respostas de enraizamento de miniestacas de *Drimys brasiliensis* nas quatro estações do ano, juntamente com análises anatômicas das miniestacas.

O quinto capítulo caracteriza a extração e composição do óleo essencial de folhas frescas e secas de *Drimys brasiliensis*, visando justificar sua utilização.

E, por fim, o sexto capítulo avalia o uso de folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* e folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* para a produção de aguardente composta por infusão, caracterizando o efeito de fatores como proporção e tempo de infusão sobre o produto final, além de avaliar os efeitos das folhas dessas espécies sobre os atributos sensoriais na cachaça e aguardente de cana.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DA ESPÉCIE

A família Winteraceae é composta por cerca de oito gêneros e 70 espécies, as quais ocorrem no hemisfério sul, desde a Australásia até Madagascar e Américas, sendo que o gênero *Drimys* apresenta em torno de seis espécies distribuídas desde o Estreito de Magalhães até o sul do México (SMITH, 1943; JOLY, 1991; TRINTA; SANTOS, 1997).

No Brasil, o gênero *Drimys* ocorre em matas de altitude e ciliares de terrenos brejosos ou bem drenados, se estendendo desde o nordeste e leste até o sul do país (LORENZI; MATOS, 2002). Este gênero é característico dos capões dos campos (Savana) e dos subosques dos pinhais (Floresta Ombrófila Mista), ocorrendo também nos topos de morro da região da Floresta Ombrófila Densa da Encosta Atlântica, e mais raramente em áreas das Florestas Estacionais Deciduais das bacias Paraná-Uruguai, apresentando dispersão significativa, porém, distribuição descontínua e irregular (TRINTA; SANTOS, 1997). Estes autores afirmam que *Drimys brasiliensis* pode ser encontrada nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Segundo estudos realizados por Mariot (2008), foi verificado que a espécie plantada em ambientes mais abertos ou secundários favoreceu a capacidade de incremento em diâmetro a altura do peito (DAP), altura (H) e área basal (AB), além de antecipar a reprodução em plantas de menor porte, indicando que a espécie possui potencial de manejo em florestas secundárias, além de indicar um potencial para cultivo em sistemas agroflorestais. Segundo Carvalho (2008), a espécie é indicada para paisagismo e recuperação de áreas degradadas.

Drimys brasiliensis é popularmente conhecida como cataia, casca d'anta, copororoca-picante, carne-de-anta, melambo, paratudo, pau-para-tudo, canela-amarga, pau-casca-de anta, cataeira e em tupi-guarani como caá-tuya, que significa árvore-para-velho (BARROSO, 1978; LORENZI, 1992)

Pio Corrêa (1931) relata que os aborígenes Araucanos, celebravam ritos e festas sob a copa de uma das espécies do gênero, estando associada à mitologia deste povo, o qual comenta que a anta (*Tapirus americanus*), quando doente, recorria à casca da árvore, assim justificando o nome vernáculo da espécie: casca-d'anta.

É uma árvore com até 20 m de altura, com folhas pecioladas, lâminas obovadas, oblongas ou elípticas, com até 14,3 cm de comprimento e 5,8 cm de largura, de ápice obtuso, arredondado ou emarginado, de margem plana ou revoluta, pecíolos alados ou não, geralmente de 5 a 25 mm de comprimento (TRINTA; SANTOS, 1997). Carvalho (2008), porém afirma que a espécie possui um crescimento variável, podendo atingir até 27 metros de altura e 50 cm de diâmetro à altura do peito.

Levando-se em consideração que a cataia não possui grande porte, em geral não atingindo o dossel da floresta, o baixo crescimento diamétrico, porém contínuo, sugere que ela se adapta a diversas condições fitossociológicas (OLIVEIRA; MATTOS, 2010). É uma espécie indicadora de ambientes de clima úmido e frio, sendo tolerante a baixas temperaturas e há poucos trabalhos realizados a respeito do seu crescimento (FALKENBERG; VOLTOLINI, 1995; OLIVEIRA et al., 2008).

A espécie é heliófila, monóica, perenifólia e floresce até duas vezes por ano, porém com maior intensidade nos meses de julho a novembro no Estado do Rio Grande do Sul; setembro a janeiro no Estado de Minas Gerais e Paraná; outubro a fevereiro no Estado de Santa Catarina; novembro a março no Estado do Rio de Janeiro e fevereiro no Estado de São Paulo (ROTTA, 1977; BRANDÃO; GAVILANES, 1990; MARCHIORI, 1997; CARVALHO, 2008), frutificando de março a maio no Estado do Paraná e São Paulo e, de agosto a fevereiro no Estado do Rio Grande do Sul (BACKES; NARDINO, 1998).

Mariot (2008), afirma que do início do florescimento ao final da frutificação, o período foi de 12 meses, superior aos 6 meses encontrados por Gottsberger et al. (1980). Isto ocorre, possivelmente, devido ao período diferenciado de florescimento entre o local de desenvolvimento da espécie. Na região do Estado de Santa Catarina, a fenofase fruto verde ocorre durante o período de inverno, possivelmente devido às baixas temperaturas, para que após esta estação os frutos se desenvolvam e amadureçam (MARIOT, 2008).

Suas inflorescências são terminais, raro axilares, longo pedunculadas, em geral, com 3 a 5 flores, algumas vezes até 6, pedúnculos alados ou não, de 18 a 60 mm de comprimento. Suas flores são brancas, pediceladas, com 2 sépalas, orbiculadas ou ovado-arredondadas, pétalas elípticas ou oblongas, e gineceu com 5 a 8 carpelos. É uma espécie que apresenta autocompatibilidade, sendo polinizada por insetos e dispersa por pássaros (GOTTSBERGER et al., 1980).

Drimys brasiliensis apresenta alta taxa de frutificação, apesar da baixa visitação de suas flores, o que pode ser explicado pela sua autocompatibilidade e a ocorrência de flores no estágio feminino-masculino, favorecendo a autofecundação. Aparentemente não possui um polinizador especializado, pois suas flores abrem individualmente em diferentes horas do dia desde o amanhecer até o anoitecer, sendo que os órgãos sexuais ficam expostos e desprotegidos e a flor permanece aberta por até 11 dias (GOTTSBERGER et al., 1980).

A visitação em suas flores é de baixa frequência considerando a quantidade de flores disponíveis, apesar da diversidade de espécies de visitantes (MARIOT, 2008). Esses dados corroboram com Newstrom et al. (1994), que indicam que a estratégia de florescimento concentrado e intensivo atrai um grande número de polinizadores de diferentes grupos taxonômicos.

Seus frutos são múltiplos, livres, constituídos por frutíolos do tipo baga, indeiscentes, carnáceos, polispérmicos e quando maduros escuro-rajados. Suas sementes são reniformes, negro-brilhantes e possuem dormência por imaturidade embrionária, ou seja, o embrião necessita de um período adicional para completar seu desenvolvimento (TRINTA; SANTOS, 1997; ABREU et al., 2005).

Sua madeira é amarelada com largas veias róseas, às vezes castanho-claras, sempre firme e fácil de trabalhar, porém pouco resistente e por isso recomendada para obras internas, carpintaria, caixotaria, lenha e carvão (TRINTA; SANTOS, 1997; BACKES; IRGANG, 2002; CARVALHO, 2008). A casca é aromática e utilizada como estomáquica, antiescorbútica, antidiarreica, sudorífica e tônica, além de ser utilizada como condimento para carnes, pois quando seca, moída e transformada em pó, torna-se substituta da pimenta do reino (MARCHIORI, 1997; TRINTA; SANTOS, 1997).

A madeira de *Drimys brasiliensis* é a única dentre as angiospermas da flora brasileira com ausência de elementos vasculares. Sua estrutura anatômica compõe-se inteiramente de traqueídeos longitudinais, parênquima axial, raios e grandes

pontuações (ABREU et al., 2005). Estes, por serem muito conspícuos, contribuem para a identificação dendrológica da espécie, quando se examinam os tecidos internos da casca ou da madeira, comprovando a primitividade desta família da ordem Magnoliales, à semelhança dos caracteres morfológicos externos e reprodutivos (MARCHIORI, 1997).

Popularmente, *Drimys brasiliensis* é utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo (SIMÕES et al., 1986).

Na utilização farmacêutica é comercializada sob as formas de tintura e elixir, indicados em distúrbios do trato digestivo e como antifebril. Malheiros et al. (2005) detectaram atividade antifúngica dos sesquiterpenos encontrados em suas cascas e Cechinel Filho et al. (1998) os isolaram e identificaram diversos compostos ativos, verificando que o poligodial era mais potente no controle da dor do que a aspirina.

Ribeiro et al. (2008) verificaram que os óleos essenciais encontrados nas folhas e cascas eram letais para carrapatos de bovinos e caninos. Esses óleos essenciais, quando extraídos de suas flores, podem ainda ser usados na perfumaria (CARVALHO, 2008).

A espécie apresenta ainda importância fitoquímica, sendo matéria prima para fabricação de um produto chamado drimanol, o qual possui ação efetiva no combate à enxaqueca causada pelo glutamato monossódico, além de apresentar poucos efeitos colaterais (CAVALHEIRO, 2006).

Além de possuir importância fitoquímica e fitoterapêutica, a cataia apresenta ainda importância econômica, uma vez que suas folhas são comumente adicionadas à cachaça ou licor, pela população rural que habita nas proximidades dessa espécie (MARCHIORI, 1997; FLORA SBS, 2011).

2.2. PROPAGAÇÃO VEGETATIVA VIA ESTAQUIA

A propagação de plantas ocorre sexuadamente, via sementes, ou assexuadamente, sendo que esta ocorre naturalmente por meio de bulbos, tubérculos e rizomas e, por condução humana, na enxertia, mergulhia, alporquia, estaquia e micropropagação. Estes métodos conservam as características genéticas

das plantas propagadas, sendo a estaquia uma técnica de fácil execução e de grande utilidade e importância no meio florestal, onde os fenótipos são observados após longo período (HARTMANN et al., 2011; PAGEL, 2004).

A propagação vegetativa baseia-se na capacidade de regeneração dos tecidos vegetais e utiliza estruturas vegetativas para produzir uma nova planta, sendo portanto, independente da produção de sementes (EDMOND et al., 1957; ALVARENGA; CARVALHO, 1983). Ou seja, consiste na multiplicação de um vegetal a partir de tecidos que possuem a capacidade de reassumir suas atividades meristemáticas, não ocorrendo recombinação gênica, visto que se utilizam segmentos vegetativos como caules, folhas ou raízes (SILVA, 1984; ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; HARTMANN et al., 2011).

Dentre os métodos descritos em literatura, a estaquia é aquele que apresenta maior simplicidade, rapidez e baixo custo (SILVA, 1984).

A estaquia é considerada uma das técnicas mais importantes na propagação vegetativa sendo a formação de raízes adventícias o principal requisito para o sucesso da técnica (SILVA, 2007; HARTMANN et al., 2011). No entanto, muitas espécies não apresentam capacidade de enraizamento, o que limita a produção de mudas das mesmas (HARTMANN et al., 2011).

É uma técnica utilizada para a produção de mudas em larga escala, pois diminui o tempo de obtenção das mesmas e possibilita a uniformidade de enraizamento, além de reduzir o período juvenil e, desse modo, promover a antecipação do florescimento (HARTMANN et al., 2011).

O sucesso da propagação via estaquia não se limita ao ato de remover um ramo da planta matriz e colocá-lo num substrato para o enraizamento, pois a espécie envolve diversos fatores que influenciam no resultado de enraizamento. A facilidade de enraizamento é explicada por fatores intrínsecos, como balanço hormonal, idade, juvenilidade e estágio fisiológico da planta matriz; e fatores extrínsecos da estaca, como época do ano, tipo de estaca, temperatura, umidade e luminosidade (ONO; RODRIGUES, 1996; ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; FERRARI et al., 2004; FERRIANI, 2006).

Diante do interesse em empregar essa espécie em plantações e ampliar suas possibilidades de uso, é necessário buscar informações a fim de estabelecer condições adequadas para a germinação e superação da dormência e, com isso, reduzir o tempo de produção de mudas; analisar o enraizamento de estacas

caulinares, estabelecendo protocolos para a produção de mudas; e avaliar o desenvolvimento da espécie em condições de campo para estabelecer sistemas de cultivo (RADOMSKI et al., 2013).

2.3. FATORES RELACIONADOS AO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS

O processo de enraizamento pode ser afetado por fatores internos e externos à planta matriz ou às estacas. Os fatores internos podem ser as condições fisiológicas da planta matriz, a idade da planta ou das estacas, o tipo de estaca (apical, mediana ou basal; herbácea, semilenhosa ou lenhosa), a época de coleta, o potencial genético de enraizamento, a sanidade da planta, o balanço hormonal e a possibilidade de oxidação por compostos fenólicos. Já os fatores externos estão relacionados à temperatura, luz, umidade, substrato, lesão na base da estaca e a aplicação de reguladores. A interação entre estes fatores permite explicar as causas do enraizamento, ou seja, quanto mais difícil o enraizamento de uma espécie ou cultivar, maior será a importância dos fatores que o afetam (FACHINELLO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2009).

A condição nutricional da planta matriz afeta diretamente o enraizamento em relação ao teor de carboidratos, reservas mais abundantes e, com isso tem correlação direta às maiores porcentagens de enraizamento e sobrevivência das estacas (FACHINELLO et al., 1994).

O tipo de estaca é um dos principais fatores que influenciam a capacidade de formação de raízes, sendo que estacas semilenhosas tendem a enraizar com mais facilidade quando comparadas com as lenhosas, devido a menor lignificação (FACHINELLO et al., 1995). Para a maioria das plantas as estacas herbáceas enraízam mais facilmente quando comparada com as demais (NACHTIGAL, 1999). Além do tipo da estaca, a escolha do ramo e a posição de retirada da estaca também podem provocar variação no desenvolvimento das mudas (LIMA et al., 2006).

A época do ano está relacionada com a consistência da estaca, podendo influenciar o enraizamento (NORBERTO et al., 2001). Para algumas espécies de fácil enraizamento, as estacas podem ser coletadas em qualquer época do ano,

entretanto, para outras, o período de maior enraizamento coincide com a estação de repouso ou com a estação de crescimento. Com isso, é necessário que se determine, para cada espécie, qual a melhor estação do ano para a confecção das estacas, a qual está diretamente relacionada com a condição fisiológica da planta matriz (HARTMANN et al., 2011). A influência da época de coleta das estacas pode ser atribuída às condições climáticas, principalmente à temperatura e disponibilidade de água (FACHINELLO et al., 1994).

Aconselha-se que a temperatura no leito de enraizamento varie de 21 a 27 °C durante o dia, e ao redor de 15 °C durante a noite, sendo essa recomendação considerada satisfatória para a maioria das espécies. A elevação da temperatura do ar acima de 27 °C deve ser evitada, pois é quando ocorre o aumento do metabolismo e consequente perda de água pelas folhas, levando as estacas ao dessecamento, tendo em vista que a perda de água é sempre mais rápida do que sua absorção (HARTMANN et al., 2011).

Para evitar a perda excessiva de água por transpiração, procura-se manter a umidade do ar acima de 80%, conservando assim a turgescência dos tecidos (XAVIER et al., 2009). Para isto é necessário proporcionar condições de turgidez ao propágulo até este formar suas raízes e poder efetivamente absorver água. A utilização de um sistema de nebulização promove a formação de uma camada fina de água junto à superfície da estaca, evitando a perda de água e mantendo a temperatura relativamente constante (SILVA, 2007; XAVIER et al., 2003).

A luminosidade é outro fator que exerce influência no enraizamento, pois a radiação excessiva é capaz de fotodestruir a auxina endógena e prejudicar as relações hídricas da estaca, reduzindo assim o enraizamento (HARTMANN et al., 2011).

O substrato também apresenta um importante papel para o bom desenvolvimento das raízes nas estacas. Esse deve possuir baixa densidade, boa capacidade de absorção e retenção de água, boa aeração e drenagem para evitar o acúmulo de umidade, além de ser isento de pragas, doenças e substâncias tóxicas (KÄMPF, 2005). O substrato apropriado para enraizamento deve sustentar as estacas durante o período de enraizamento, proporcionar umidade, um ambiente escuro e opaco, reduzindo a penetração da luz na base da estaca, além de permitir boa aeração (HARTMANN et al., 2011).

2.4. REGULADORES VEGETAIS

Quando espécies vegetais cujas estacas não enraízam facilmente em condições naturais são submetidas a tratamentos com auxinas sintéticas e respondem com a emissão radicial, tem-se a classificação destas como espécies relativamente fáceis de enraizar, onde o fator limitante ao enraizamento é a auxina (HARTMANN et al., 2011).

A palavra auxina se origina do termo grego *Auxein*, que significa *crescer* (AWAD; CASTRO, 1983). A primeira auxina isolada foi o ácido indol acético (IAA), que junto com o ácido indol butírico (IBA) formou o grupo de auxinas endógenas mais conhecidas, as quais agem no crescimento apical do caule, divisão da carioteca, alongamento celular e formação de raízes adventícias em estacas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Auxina é um termo genérico que representa uma classe de compostos caracterizados pela capacidade de induzir o alongamento das células na região subapical dos ramos e pode agir como enzima, promovendo o alongamento das células a certa distância do ápice (BIASI, 2002).

O uso de reguladores vegetais na base das estacas têm como objetivo o aumento da porcentagem de enraizamento em menor espaço de tempo, com maior número, vigor e uniformidade das raízes (BOLIANI; SAMPAIO, 1998). Estas características acabam por diminuir o tempo de permanência das estacas no leito de enraizamento, acelerando assim o tempo de formação da muda (ALVARENGA; CARVALHO, 1983; FERRI, 1997).

Os reguladores vegetais, além de estimularem a iniciação radicial, promovem o aumento da porcentagem de estacas enraizadas e aceleram o tempo de formação das raízes (ALVARENGA; CARVALHO, 1983).

A utilização dos reguladores vegetais no enraizamento é uma prática largamente difundida, tornando viável a produção de mudas por estaquia (BOLIANI; SAMPAIO, 1998).

Segundo Hartmann et al. (2011), a utilização do ácido indol butírico (IBA) pode levar à otimização do processo do enraizamento devido ao aumento no número de raízes adventícias formadas, à uniformidade e ao melhor desenvolvimento do sistema radicial.

O ácido indol butírico se destaca por ser um produto persistente, mais estável que o IAA e menos tóxico que o naftaleno acético (NAA), sendo considerado um dos melhores estimulantes ao enraizamento, com boa estabilidade à luz e ação localizada (ALVARENGA; CARVALHO, 1983; FANTI, 2008). A concentração a ser utilizada, o modo e o tempo de aplicação influenciam o enraizamento, com variações entre espécies (ROLSTON et al., 1996; CARPANEZZI et al., 2001; FERREIRA et al., 2001; MATIAS et al., 2001; KERKETTA; PANDEY, 2002; PIMENTA, 2003).

2.5. ÓLEO ESSENCIAL

O termo óleo essencial é empregado para designar líquidos oleosos voláteis dotados de forte aroma, quase sempre agradável e extraído principalmente de plantas (UGAZ, 1994). São considerados misturas complexas bioativas sendo difícil associar a atividade biológica observada a um determinado constituinte (YUNES; CECHINELL FILHO, 2007).

Seus principais constituintes são os monoterpenos, seguidos pelos sesquiterpenos, além de compostos aromáticos de baixo peso molecular. Porém, acredita-se que durante seu desenvolvimento, as plantas superiores sintetizam terpenóides essenciais para o crescimento e desenvolvimento. Contudo, a presença de outras classes de terpenos pode estar relacionada a funções ecológicas como atração a polinizadores e defesa do vegetal (LANGENHEIM, 1994).

A composição de alguns óleos essenciais pode dificultar a capacidade de adaptação de herbívoros frente a problemas de intoxicação, ou ainda estimular a presença de polinizadores, bem como proporcionar proteção da planta ao ataque de fungos e atividade bactericida que estão relacionadas a atividades ecológicas (BERGESTRÖM, 1991; JONES, 1991; BERENBAUM, 1992). De acordo com Bhavanani e Ballow (1992), 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% bacterianas.

Do ponto de vista econômico, uma possibilidade para a produção de aromas por bioprocessos é a utilização de terpenos, os quais ocorrem largamente na natureza e são os responsáveis pelo aroma dos óleos essenciais (WELSH et al., 1989; NIERO; MALHEIROS, 2007).

O gênero *Drimys* destaca-se por apresentar metabólitos secundários responsáveis por diversos efeitos farmacológicos comprovados cientificamente, incluindo atividades antiinflamatória, antibacteriana, antifúngica, citotóxica, moluscicida, piscicida e reguladora do crescimento de plantas. Entre as principais classes de substâncias encontradas são os sesquiterpenos drimanos, flavonóides e aromadendranos (MORTON, 1981; SIMÕES et al., 1986; JANSEN; GROOT, 1991; ANDRÉ et al., 1999).

Na medicina popular, as infusões com a casca de espécies do gênero *Drimys* são usadas no tratamento de diversas doenças como a úlcera, câncer, dores, doenças febris e substitutos do quinino no tratamento da malária. Apenas algumas dessas atividades são confirmadas (LIMBERGER et al., 2007).

O gênero *Drimys* é caracterizado pela presença de flavonóides, monoterpenos e sesquiterpenos, ocorrendo a presença constante do sesquiterpeno drimano. Esta classe de sesquiterpenos tem atraído um interesse particular devido à sua ampla gama de atividade biológica e as propriedades sensoriais (JANSEN; GROOT, 1991; BROWN, 1994; ISHIKAWA et al., 1997; CECHEINEL-FILHO et al., 1998; ANDRÉ et al., 1999; MASHIMBYE et al., 1999; ALVES et al., 2001; ARANDA et al., 2001; MALHEIROS, 2001; KUBO et al., 2001).

Segundo Cruz (2013), vários autores relataram a presença mais comum dos sesquiterpenos drimânicos nos extratos de óleos essenciais da espécie, como o drimanal, drimenol, valdiviolide, poligodial, 1-b-(p-metóxicinamoil) poligodial e 1-b-(p-cumaroiloxi) poligodial.

Assim, de acordo com Gomes et al. (2013), o estudo químico do óleo essencial de *Drimys brasiliensis* permite conhecer as suas atividades biológicas e avaliar a sua toxicidade, a fim de descobrir mais sobre o seu potencial terapêutico, bem como os seus possíveis efeitos adversos, aumentando, assim, a segurança de sua utilização pela população.

2.6. AGUARDENTE

As primeiras aguardentes brasileiras foram obtidas a partir do melaço de açúcar, resíduo dos engenhos instalados pelos colonizadores portugueses, sendo o primeiro deles construído em Santos, por Martim Afonso de Souza (LIMA, 1999).

Antigamente os Senhores de Engenho ofertavam bebida alcoólica aos escravos junto à primeira refeição do dia, a fim de garantir maior resistência para o trabalho nos canaviais. Logo, a bebida transformou-se em um importante insumo nos engenhos, abrindo espaço para produção e consumo da aguardente (OSHIRO; MACCARI, 2005). Logo os escravos passaram a destilar a bebida, batizada com o nome de “cagaça”, a qual a partir deste momento prosperou no litoral do Rio de Janeiro, tornando-se até moeda corrente para a compra de escravos na África (GUIA OFICIAL DA CACHAÇA, 2005). Com o passar do tempo e aprimoramento da produção, a cachaça ganhou adeptos, passando a fazer parte da mesa do senhor de Engenho e das casas dos colonizadores portugueses (COMERCIO EXTERIOR, 2000).

A aguardente obtida exclusivamente do caldo de cana era até muito recentemente oficialmente denominada “caninha”, enquanto o termo popular “cachaça” referia-se somente à aguardente obtida a partir do melaço (BRASIL, 1973). Entretanto, desde o estabelecimento do Decreto nº 2314 de 4 de setembro 1997 da Legislação Brasileira, o qual resgata a história da aguardente, tornou sinônimos os termos “aguardente de cana”, “caninha” e “cachaça”, usados atualmente para designar a aguardente obtida a partir do caldo de cana fermentado, também vulgarmente chamada “pinga” (BRASIL, 1997). Por conseguinte, no dia 29 de junho de 2005 foi regulamentada a Instrução Normativa nº 13 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sendo então aprovado o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça (BRASIL, 2005).

De acordo com a Instrução Normativa (BRASIL, 2005), a aguardente de cana é definida como sendo uma bebida com graduação alcoólica de 38% a 54% em volume, a 20 °C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar, podendo ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹ expressos em sacarose. Já a cachaça é a denominação típica e

exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% em volume, a 20 °C, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares, podendo também ser adicionada de açúcares até 6 g L⁻¹ expressos em sacarose.

No Estado do Paraná, casca e folhas de *Drimys brasiliensis* e *Pimenta pseudocaryophyllus*, ambas conhecidas popularmente como cataia, são tradicionalmente adicionadas à cachaça, originando a chamada cachaça de cataia ou licor de cataia (FLORA SBS, 2011). É de conhecimento público que a cachaça de cataia é uma bebida muito popular no Litoral Norte do Estado do Paraná e no Vale do Ribeira, Litoral Sul do Estado de São Paulo.

Segundo histórias locais e informações de domínio público, a bebida originou-se na comunidade de Barra do Ararapira, Litoral Norte Paranaense em 1985, quando resolveram misturar as folhas de cataia, originalmente utilizadas na comunidade como chá ou erva analgésica, com cachaça. Logo a bebida se espalhou pelas redondezas, sendo utilizada pelos pescadores em dias de frio e também por turistas, os quais propaganderam a bebida, também conhecida como uísque de caiçara ou uísque da praia.

A bebida, segundo informações de domínio público, é feita pela adição das folhas da cataia, submersas na cachaça, reduzindo drasticamente sua acidez, fazendo com que se torne saborosa, com alteração de cor e sabor.

3. CAPITULO I: ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS COM E SEM FOLHAS DE *Drimys brasiliensis* Miers ORIUNDAS DE BROTAÇÕES DO ANO

RESUMO

Drimys brasiliensis Miers (Winteraceae) é uma Angiosperma nativa da Mata Atlântica conhecida popularmente como cataia. De importância terapêutica, fitoquímica, aromática e sócio-econômica, é utilizada na fabricação de licores, perfumaria, condimentos, chá, dentre outros. Por apresentar dormência em suas sementes, devido à imaturidade embrionária, a produção de mudas de cataia em larga escala constitui uma problemática de propagação da espécie. Assim, a estaquia foi utilizada como uma possível técnica visando a solução dessa demanda, diminuindo o tempo de obtenção das mudas e possibilitando a uniformidade de enraizamento. Estacas caulinares provenientes de brotações do ano de plantas matrizes de *Drimys brasiliensis* com aproximadamente cinco anos de idade foram coletadas em abril de 2012, correspondendo à estação do outono, confeccionadas com 10-12 cm de comprimento, corte em bisel na base e reto no ápice, mantendo-as com duas folhas, uma folha e sem folhas na porção apical. Após a desinfestação, as bases das estacas foram submetidas aos seguintes tratamentos com ácido indol butírico (IBA) em solução hidroalcoólica 50%, por 10 segundos de imersão: 100% água, 0 mg L⁻¹IBA, 500 mg L⁻¹IBA, 1500 mg L⁻¹IBA, 3000 mg L⁻¹IBA, 4500 mg L⁻¹IBA e 6000 mg L⁻¹IBA. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 3x7 (3 tipos de estacas x 7 concentrações de IBA), com quatro repetições contendo 10 estacas por unidade experimental. As estacas foram acondicionadas em tubetes contendo vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada (1:1), mantidas em casa de vegetação. Após 120 dias, avaliou-se a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes por estaca, porcentagem de estacas com calos, vivas, mortas, com novas brotações e que mantiveram suas folhas originais. Foram ainda coletadas amostras da base de 10 miniestacas com aproximadamente 2,0 cm de comprimento, as quais foram fixadas em FAA 70 e conservadas em álcool 70% até a confecção das lâminas para a realização da análise e descrição anatômica. A aplicação de IBA não influenciou nenhuma das variáveis estudadas. Estacas com duas folhas apresentaram melhor enraizamento (51,07%) e menor porcentagem de mortalidade (5,35%) quando comparadas com estacas com uma folha (35,00%) ou sem folhas (0,35%). A estaquia sem a presença de folhas não é recomendada, por causar a maior porcentagem de mortalidade (93,57%). Não foram observadas barreiras anatômicas sobre a emissão de novas raízes.

Palavras-chave: Winteraceae; cataia; ácido indol butírico; estaquia.

ROOTING OF *Drymis brasiliensis* Miers SEMIHARDWOOD STEM CUTTINGS WITH AND WITHOUT LEAVES OBTAINED FROM CURRENT-YEAR SHOOTS

ABSTRACT

Drymis brasiliensis Miers (Winteraceae) is an angiosperm native to the Atlantic Rainforest, commonly known as cataia or pepper bark. It is a plant of therapeutic, phytochemic, aromatic and socioeconomic interest, used to produce liquors, perfumes, sauces, teas and others. Since it presents seed dormancy, due to embryonal immaturity, the large scale production of pepper bark seedlings is an issue concerning species propagation. Thus, cuttings propagation was used as a possible technique to solve the problem, reduce the time needed for seedlings production and to make the rooting uniformity possible. Stem cuttings, obtained from current-year shoots of *Drymis brasiliensis* stock plants approximately five years old, were collected in April 2012 and identified as autumn cuttings, prepared with a length of 10-12 cm, a bevel cut on the base and a straight cut on the top, keeping respectively two leaves, one leaf and no leaves in the apical portion. After disinfection, bases of cuttings were submitted to the following treatments with indolebutyric acid (IBA) in 50%, hydroalcoholic solution, all through 10 seconds immersion: 100% water, 0 mg L⁻¹ IBA, 500 mg L⁻¹ IBA, 1500 mg L⁻¹ IBA, 3000 mg L⁻¹ IBA, 4500 mg L⁻¹ IBA and 6000 mg L⁻¹ IBA. The experiment had a completely randomized design, with factorial arrangement 3x7 (3 types of cuttings x 7 IBA concentrations), with four repetitions of 10 cuttings per experimental unit. Cuttings were accommodated in plastic pots containing fine vermiculite and carbonized rice shell (1:1) and maintained in a greenhouse. After 120 days, evaluation of the following variables was performed: percentage of rooted cuttings, number of roots per cutting, length of the three longest roots per cutting, percentage of cuttings with callus, number of alive and dead, cuttings with new shoots and number of cuttings that maintained the original leaves. Furthermore, samples from the base of 10 minicuttings, with a length of approximately 2.0 cm, were collected, fixed in FAA 70 and preserved in alcohol 70% until the preparation of slides for the anatomical analysis and description. Application of IBA had no influence on any of the described variables. Cuttings with two leaves presented the best rooting percentage (51.07%) and the lowest percentage of mortality (5.35%), when compared to cuttings with one leaf (35.00%) or without leaves (0.35%). Stem cuttings without leaves are not recommended because showed the highest percentage of mortality (93.57%). There were no observed anatomical barriers to new roots emission.

Key words: Winteraceae; cataia; pepper bark; indolebutyric acid; cutting.

3.1. INTRODUÇÃO

Drimys brasiliensis Miers é uma angiosperma pertencente à família Winteraceae, ordem Canellales (CRONQUIST, 1981). O gênero *Drimys* apresenta cerca de seis espécies distribuídas desde o Estreito de Magalhães até o sul do México (EHRENDORFER et al., 1979; TRINTA; SANTOS, 1997; FIELD et al., 2000).

Conhecida como casca d'anta, cataia, canela-amarga, cataeira, dentre outros nomes, sendo que em tupi-guarani é chamada de caá-tuya (árvore-para-velho) (SCHULTZ, 1975; BARROSO, 1978; LORENZI, 1992; LONGHI, 1995), é uma árvore nativa da Mata Atlântica de ocorrência no Brasil nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (TRINTA; SANTOS, 1997).

Devido ao fato de apresentar utilizações terapêuticas, pode ser considerada de extrema importância em relação ao potencial de uso humano (PIO CORRÊA, 1978; TRINTA; SANTOS, 1997).

As espécies do gênero *Drimys* possuem valor de uso na medicina popular brasileira, com interesses sócio-econômicos devido sua madeira ser de boa qualidade e com um vasto campo de aplicação industrial, desde bebidas até medicamentos. Sua madeira pode ainda ser usada para celulose, papel, e, devido ser pouco resistente, para obras internas, construções, carpintaria, caixotaria e caixilhos e, seu potencial energético faz com que seja recomendada para lenha e carvão (LORENZI, 1992; SCHEIDT et al., 2002; CARVALHO, 2008).

A espécie apresenta importância fitoquímica, uma vez que sua matéria prima é usada na fabricação de um produto bioquímico chamado “drimanol”, o qual possui ação no combate a enxaqueca, apresentando poucos efeitos colaterais (CAVALHEIRO, 2006). Popularmente, é recomendada como de uso interno, apresentando ação estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo (SIMÕES et al., 1986)

Suas sementes apresentam dormência, fato que constitui num problema para análise de sementes e produção de mudas. Essa dormência se deve à imaturidade embrionária, uma vez que os embriões são rudimentares e com isso

necessitam de um período adicional para completar seu desenvolvimento antes de se tornarem aptos a germinar (ABREU et al., 2005).

Devido à dificuldade de produção de mudas via sementes, a propagação vegetativa é uma técnica utilizada para a produção de mudas em larga escala, pois diminui o tempo de obtenção das mesmas e possibilita a uniformidade de enraizamento (HARTMANN et al., 2011).

A presença das folhas na confecção das estacas pode exercer um papel importante e estimulatório para a indução do enraizamento (HARTMANN et al., 2011), pois é nas folhas que ocorre em grande quantidade a produção de hormônios e fotoassimilados necessários à rizogênese (ALVARENGA; CARVALHO, 1983).

As folhas perdem água por transpiração e com isso podem levar a desidratação das estacas, sendo que para minimizar este problema, reduz-se ao máximo o número de folhas, bem como sua área por estaca além de utilizar a nebulização para manutenção da umidade ao redor das mesmas, reduzindo a temperatura e então diminuindo a taxa de transpiração (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001).

A espécie é perenifólia, ou seja, mantém as suas folhas durante todo o ano, porém como as mesmas estão concentradas no ápice da copa, o estudo da propagação vegetativa via estaquia caular semilenhosa sem a presença de folhas torna-se interessante para o aproveitamento de partes do caule sem folhas, visando verificar a possibilidade de produção de mudas.

A aplicação de reguladores vegetais do grupo das auxinas, na base das estacas tem o objetivo de estimular a iniciação radicial, promover o aumento da porcentagem de estacas enraizadas, acelerando o tempo de formação das raízes e diminuindo a permanência das estacas no leito de enraizamento (ALVARENGA; CARVALHO, 1983).

O conhecimento da estrutura interna do caule na estaquia é de grande importância, pois permite detectar possíveis dificuldades de enraizamento, fazendo com que essas possam ser superadas, pois em alguns casos ela ocorre pela presença de barreiras anatômicas à emissão dos primórdios radiciais (ONO; RODRIGUES, 1996).

Além desses fatores, o sucesso do enraizamento está relacionado à estrutura interna, pois algumas espécies possuem um anel de fibras composto por células esclerenquimáticas, de parede bastante lignificada, que sustentam a planta.

Estacas com baixo potencial de enraizamento estão relacionadas a estes tecidos com grande quantidade de fibras e esclereídeos (BEAKBANE, 1961; HARTMANN et al., 2011).

Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA) no enraizamento de estacas caulinares semilenhosas oriundas de brotações do ano de *Drimys brasiliensis*, com a presença e ausência de folhas, descrevendo a anatomia das estacas utilizadas.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Estaquia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Propagação de Espécies Florestais da Embrapa Florestas, localizada em Colombo (PR).

O material vegetativo de *Drimys brasiliensis* Miers, depositado no herbário da Embrapa Florestas sob o número HFC n° 7963, foi coletado a partir de plantas matrizes de aproximadamente cinco anos de idade, com média de 2,86 m de altura (Figura 3.1 A), cultivada na Fazenda Experimental da Embrapa Florestas, em Colombo (PR), sob as coordenadas 25°19'16" de latitude Sul e 49°09'31" de longitude Oeste. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb, isto é, clima caracterizado como temperado úmido com temperatura média do mês mais quente acima de 10 °C, com verões suaves e inverno com geadas frequentes e tendência de concentração de chuvas nos meses de verão, contundo sem estação seca definida.

Ramos de *Drimys brasiliensis* foram coletados no dia 02 de abril de 2012, correspondendo à estação do outono, oriundos de brotações do ano de 16 plantas matrizes. A partir destes ramos foram confeccionados três tipos de estacas caulinares semilenhosas com aproximadamente 10-12 cm de comprimento, com corte em bisel na base e reto no ápice, sendo que o diferencial entre elas foi a presença de duas folhas (Figura 3.1 B), uma folha (Figura 3.1 C) ou sem folhas (Figura 3.1 D) na porção apical. Durante o processo de confecção, as estacas foram mantidas em balde com água a fim de evitar a desidratação do material.

Posteriormente, as estacas foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 0,5% durante 10 minutos, seguido de lavagem em água corrente por 5 minutos. As estacas foram então imersas em uma solução com fungicida Derosal® 500 SC 0,1% por 5 minutos.

Logo após, as bases das estacas foram tratadas com o regulador vegetal ácido indol butírico (IBA), em solução hidroalcoólica 50%, por 10 segundos de imersão, conforme os seguintes tratamentos: 100% água (testemunha), 0 mg L⁻¹IBA, 500 mg L⁻¹IBA, 1500 mg L⁻¹IBA, 3000 mg L⁻¹IBA, 4500 mg L⁻¹IBA e 6000 mg L⁻¹IBA.

As estacas dos tratamentos 100% água (testemunha) e 0 mg L⁻¹ IBA foram imersas em solução de água destilada (100%) e solução hidroalcoólica 50% (50% água e 50% álcool), respectivamente, sem adição de regulador vegetal. Nos demais tratamentos o ácido indol butírico P.A. utilizado foi proveniente do Laboratório Sigma.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com capacidade de 53 cm³, preenchidos com vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada (1:1), sendo as estacas plantadas a cerca de 1/3 de profundidade da base das mesmas, mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de 24 °C ±2 °C e 80% de umidade relativa do ar), pertencente a Embrapa Florestas, em Colombo (PR) (Figura 3.1 E, F e G).

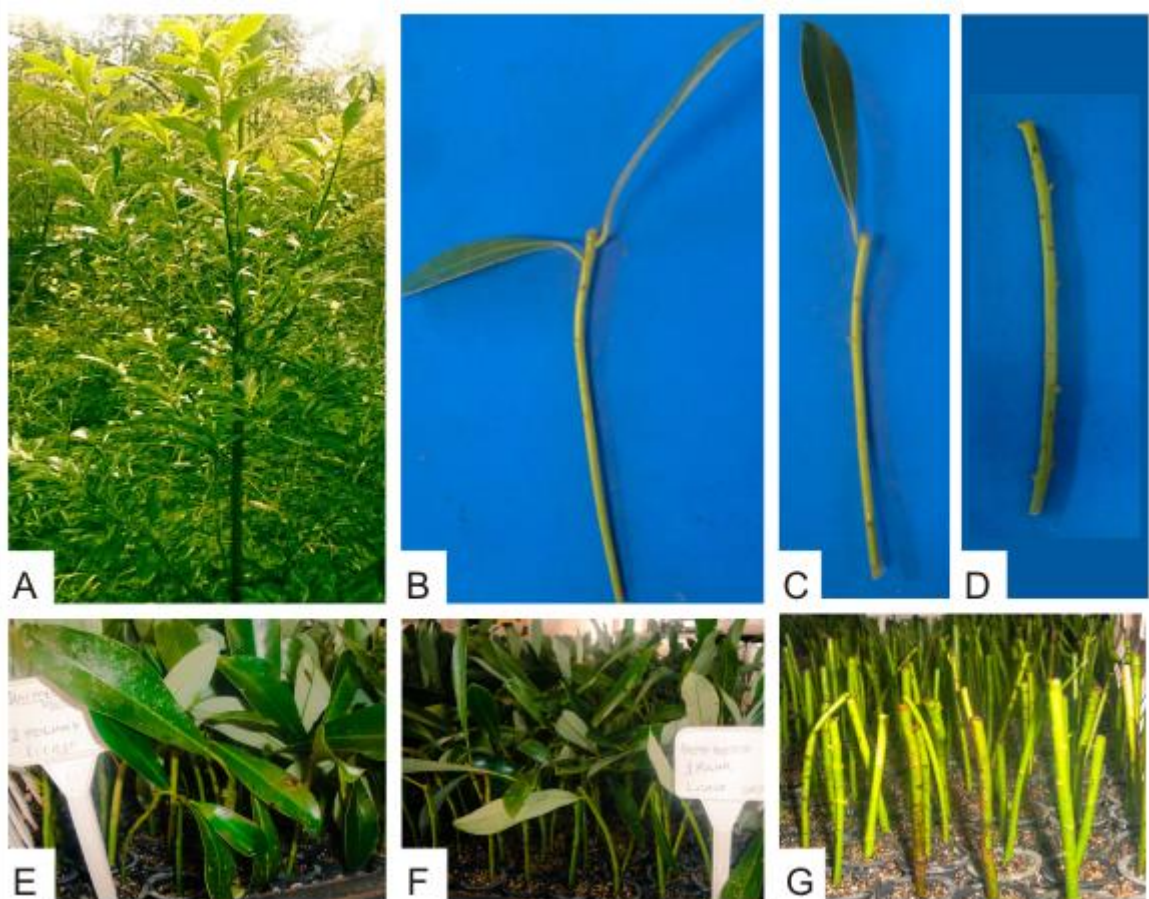


Figura 3.1 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Planta matriz. **B.** Estaca semilenhosa com a presença de duas folhas. **C.** Estaca semilenhosa com a presença de uma folha. **D.** Estaca semilenhosa sem folhas. **E.** Experimento instalado com duas folhas. **F.** Experimento instalado com uma folha. **G.** Experimento instalado sem folhas.

O experimento foi implantado segundo um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 3x7 (3 tipos de estacas x 7 concentrações de IBA), com quatro repetições contendo 10 estacas por unidade experimental, totalizando 280 estacas por tipo de estaca.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Após o período de 120 dias da instalação do experimento, foram avaliadas as seguintes variáveis:

- I. Porcentagem de estacas enraizadas (estacas vivas que emitiram raízes de, pelo menos 1 mm de comprimento);
- II. Número de raízes por estaca;
- III. Comprimento das três maiores raízes por estaca (cm);
- IV. Porcentagem de estacas com calos (estacas vivas, sem raízes, com formação de massa celular indiferenciada na base);
- V. Porcentagem de estacas vivas (estacas sem raízes e sem a presença de calos);
- VI. Porcentagem de estacas mortas (estacas com tecidos necrosados);
- VII. Porcentagem de estacas brotadas (estacas vivas, com ou sem raízes e calos, que apresentavam brotações de novas folhas);
- VIII. Porcentagem de estacas que mantiveram suas folhas (estacas vivas, com ou sem raízes e calos, que mantiveram as folhas originais no momento da avaliação).

3.2.2. Análises anatômicas

Para análise anatômica, ao final dos 120 dias do experimento, no momento da avaliação, foram coletadas amostras da base de 10 estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis*, com duas folhas, uma folha e sem folhas. Essas com aproximadamente 2,0 cm de comprimento foram fixadas em FAA 70 (JOHANSEN, 1940), por 24 horas e conservadas em álcool 70%. Fragmentos de 1,0 cm foram

infiltrados em PEG (polietilenoglicol 1500). Estes blocos foram fixados em tutores de madeira e seccionados em micrótomo de rotação (Olympus CUT 4055) com 20 µm de espessura (Figura 3.2 C) e submergidos em água destilada para dissolução do PEG (Figura 3.2 B). Os cortes foram selecionados e submetidos aos testes histoquímicos, com lugol (BERLYN; MIKSCHE, 1976), para identificação do amido, cloreto férrico (JOHANSEN, 1940), para a identificação de compostos fenólicos e Sudam III (SASS, 1951) para a identificação de lipídeos. O restante dos cortes foi corado com safrablau para identificação dos tecidos (BUKATSCH, 1972) (Figura 3.2 A).

As lâminas foram montadas de forma semipermanente com gelatina glicerizada e vedadas com esmalte incolor (Figura 3.2 D). Para a documentação dos resultados foram obtidas fotomicrografias em fotomicroscópio Zeiss com câmera SC 30 Olympus, realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, UFPR, Curitiba (PR).

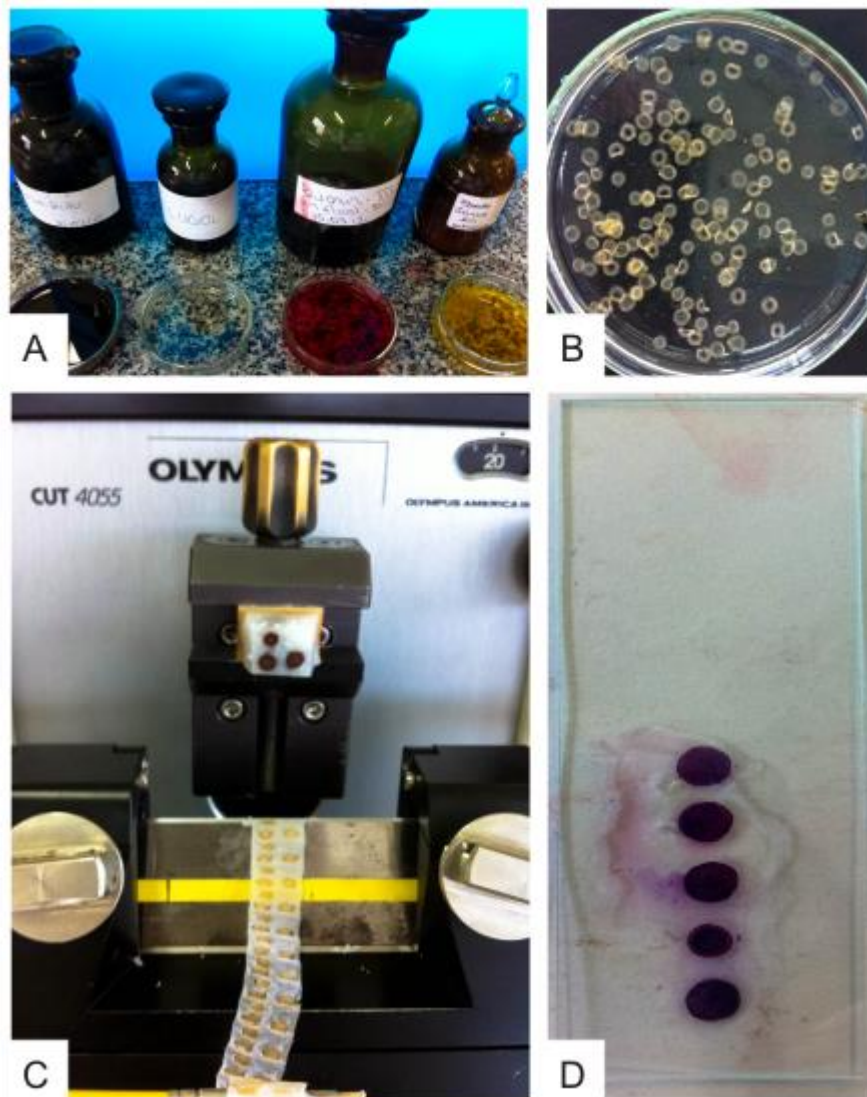


Figura 3.2 - Análises anatômicas de *Drimys brasiliensis*: **A.** Corantes utilizados para a realização das análises anatômicas. **B.** Cortes submergidos em placa de petri com água destilada. **C.** Cortes de 20 μm de espessura. **D.** Montagem das lâminas semipermanentes.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Estaquia

Para as variáveis porcentagem de enraizamento, número médio de raízes por estaca, comprimento médio de raízes por estaca, porcentagem de estacas vivas, mortas e que mantiveram as folhas originais na estaca não houve interação entre os fatores analisados, demonstrando que estes são independentes. Houve interação para a variável porcentagem de estacas com calos e brotadas, mostrando que os fatores não são independentes. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para todas as variáveis para os tipos de estacas. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para a porcentagem de estacas com calos para as diferentes concentrações de IBA (Tabela 3.1).

No experimento realizado comparando-se o tipo de estaca, todas as variáveis apresentaram diferença significativa (Figura 3.3). Estacas com duas folhas apresentaram melhor enraizamento (51,07%) e menor porcentagem de estacas mortas (5,35%) quando comparadas com estacas com uma folha ou sem folhas (Tabela 3.2).

Verificou-se um baixo enraizamento para as estacas confeccionadas sem a presença de folhas (0,35%), mostrando que a presença e a manutenção das folhas durante todo o processo de enraizamento se evidencia como um aspecto importante no crescimento e desenvolvimento de raízes adventícias. O fato de as estacas confeccionadas com duas folhas terem apresentado melhor enraizamento quando comparadas com aquelas confeccionadas com uma folha provavelmente deve estar relacionado ao aumento do número de folhas, que pode contribuir para a maior produção de fotoassimilados e auxinas (NIENOW et al., 2010). O efeito das folhas se deve à translocação de suas reservas para a base das estacas, fornecendo carboidratos, hormônios e outras substâncias necessárias para o estímulo e crescimento das raízes (HARTMANN et al., 2011).

Tabela 3.1 - Resultados da análise de variância para as variáveis: estacas enraizadas (EE), número médio de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF) em três tipos de estacas de *Drimys brasiliensis* Miers, tratadas com ácido indol butírico (IBA), Curitiba (PR), 2012.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio							
		EE	NR	CMR	EC	EV	EM	EB	EMF
		%		cm	%	%	%	%	%
Tipos de Estaca	2	19094,04**	33,65**	2,02**	12265,47**	782,14**	66736,90**	16665,47**	61557,14**
Concentrações de IBA	6	107,93 ^{ns}	1,09 ^{ns}	0,049 ^{ns}	19,44**	110,71 ^{ns}	76,19 ^{ns}	74,26 ^{ns}	85,31 ^{ns}
Tipos de Estaca x Concentrações de IBA	12	149,60 ^{ns}	0,51 ^{ns}	0,02 ^{ns}	80,75*	77,97 ^{ns}	53,57 ^{ns}	368,19*	187,69 ^{ns}
Tratamento	20	2031,54**	3,99**	0,23**	1280,83**	158,21 ^{ns}	6728,69**	1909,74**	6293,92**
Erro	63	211,50	0,91	0,04	248,01	100,39	92,85	170,50	188,09
Total	83								
Coeficiente de Variação (%)		50,69	79,95	72,05	65,17	103,91	25,78	37,82	25,60
Teste de Bartlett (X²)		8,87 ^{ns}	12,72 ^{ns}	27,14 ^{ns}	21,30 ^{ns}	30,48 ^{ns}	20,56 ^{ns}	24,14 ^{ns}	15,00 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

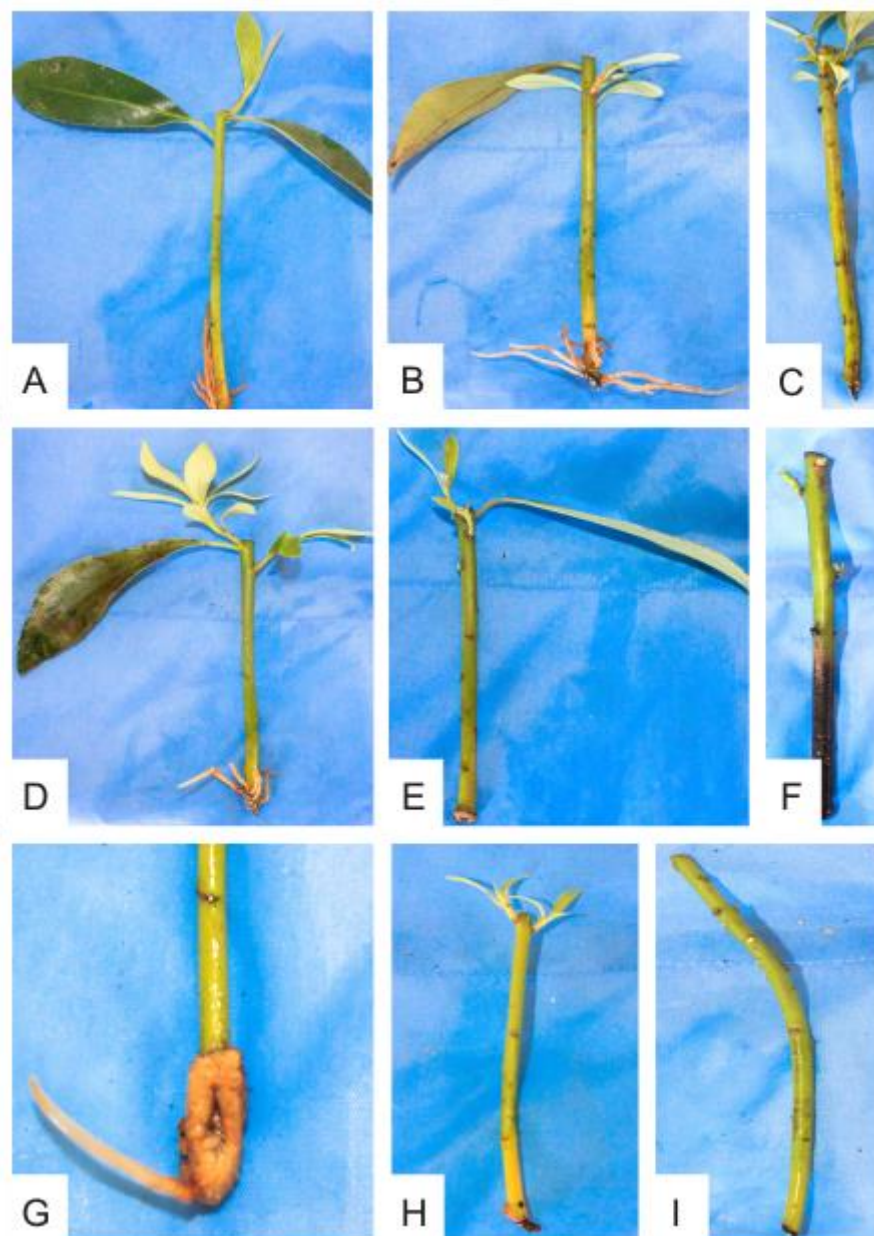


Figura 3.3 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Estaca confeccionada com duas folhas e enraizada. **B.** Estaca confeccionada com uma folha e enraizada. **C.** Estaca confeccionada sem folhas e enraizada. **D.** Estaca brotada. **E.** Estaca viva com a presença de calos. **F.** Estaca morta. **G.** Estaca com calo e raiz. **H.** Estaca viva com brotação. **I.** Estaca viva.

Tabela 3.2 - Comparação de médias das variáveis de estacas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas vivas (EV), mortas (EM) e que mantiveram folhas (EMF), com a presença de duas, uma e sem folha, Curitiba (PR), 2012.

Tipo de estaca	EE	NR	CMR	EV	EM	EMF
	%		cm	%	%	%
2 Folhas	51,07 a	2,15 a	0,53 a	7,14 b	5,35 c	87,14 a
1 Folha	35,00 b	1,43 b	0,32 b	15,71 a	13,21 b	73,57 b
Sem Folhas	0,35 c	0,00 c	0,00 c	6,07 b	93,57 a	-
Coefficiente de Variação (%)	50,69	79,95	72,05	103,91	25,78	25,60

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Para estacas de aceroleira (*Malpighia puniceifolia*), Gontijo et al. (2003) verificaram que a presença de dois pares de folhas proporcionou maior porcentagem de enraizamento, enquanto que estacas sem folhas não apresentaram formação de raízes. A ausência de formação de raízes em estacas sem folhas também foi observada por Biasi et al. (1997) em estacas de videira (*Vitis vinifera*), confirmando a fundamental importância da presença de folhas nas estacas para o enraizamento.

Mindêllo Neto (2006) estudando estaquia herbácea de pessegueiro (*Prunus persica*) obteve enraizamento nulo ou insignificante quando as estacas estavam desprovidas de folhas; entretanto, quando ocorreu a retenção de duas folhas nas estacas, o enraizamento médio foi de 40%.

Da mesma forma no presente trabalho, o desenvolvimento das raízes foi afetado pelo tipo de estaca, pois as estacas com maior número de raízes por estaca e maior comprimento médio das três maiores raízes por estaca foram aquelas com a presença de duas folhas (2,15 e 0,53 cm, respectivamente), enquanto que nas estacas sem folhas não houve formação de raízes (Tabela 3.2). Com isso percebe-se que a presença de folhas nas estacas foi fundamental para estimular o crescimento das raízes, conforme já observado para erva-cidreira (*Lippia alba*) por Lolli (2001).

Principalmente em espécies de difícil enraizamento, a presença de folhas é estimuladora à formação de raízes (PAGEL, 2004; HARTMANN et al., 2011). Para Biasi (2002), a presença de folhas e gemas ativas são fatores importantes ao estímulo à formação de raízes em estacas.

Como a presença das folhas, o uso do ácido indol butírico (IBA) também influencia positivamente o enraizamento, conforme observado por vários autores (FACCHINELLO et al., 1995; PIMENTA et al., 2005; COSTA et al., 2007; BORTOLINI et al., 2008; LANA et al., 2008), uma vez que as aplicações exógenas de reguladores vegetais, principalmente do grupo das auxinas, proporcionam maior percentual, velocidade e desenvolvimento radicial, embora as concentrações a serem aplicadas deste regulador vegetal variem em função da espécie, do estado de maturação, das condições ambientais e da forma de aplicação (HARTMANN et al., 2011). No entanto, os resultados obtidos para *Drimys brasiliensis* não confirmaram o efeito benéfico do IBA.

Além das auxinas, a iniciação de raízes adventícias é atribuída aos metabólitos translocáveis, incluindo substâncias nutricionais, hormonais e co-fatores específicos para o enraizamento (RIBAS, 1997), e a presença de folhas é necessária à produção de auxinas que são translocados para a base das estacas, contribuindo para o processo morfogenético de formação de novos tecidos, como as raízes (HARTMANN et al., 2011).

Em estacas herbáceas de patchouli (*Pogostemon patchouli*), Bettoni et al. (2010), observaram que os tratamentos com estacas caulinares com uma folha e um par de folhas apresentaram maior comprimento de raízes formadas quando comparados com aqueles sem a presença de folhas; as estacas com duas folhas também apresentaram maior número de raízes. Com isso, os autores inferiram que a maior área foliar apresentada nesses tratamentos resultou em maior fotossíntese líquida e maior acúmulo de fotoassimilados translocados, os quais foram utilizados durante o processo de rizogênese das estacas.

Para a variável porcentagem de estacas vivas de *Drimys brasiliensis*, neste trabalho, houve uma maior sobrevivência para as estacas com a presença de uma folha quando comparadas com as estacas com duas folhas e sem folhas (15,71%, 7,14% e 6,07%, respectivamente) (Tabela 3.2). Isto se deve ao fato de que, geralmente, estacas com menor área foliar possuem uma menor perda de água por transpiração e com isso menor desidratação, além do bom desenvolvimento das estacas que foram mantidas com folhas, as quais teriam mantido sua capacidade fotossintética, sintetizando compostos orgânicos utilizados para a formação de raízes na estaca (HARTMANN et al., 2011).

A presença de folhas nas estacas pode garantir a sobrevivência destas, tanto pela síntese de carboidratos via fotossíntese, quanto pelo fornecimento de auxinas e co-fatores essenciais ao processo de rizogênese, estimulando a atividade cambial e a diferenciação celular (LIONAKIS, 1981).

A estaquia sem a presença de folhas não se mostrou viável para *Drimys brasiliensis*, pois foi a que apresentou maior número de estacas mortas, com 93,57% (Tabela 3.2). Passados 90 dias de experimento, notou-se que mais da metade das estacas já estavam mortas, evidenciando, assim, a importância da presença de folhas na sobrevivência e no enraizamento durante todo o processo. Concordando com os resultados do presente trabalho, Knapik et al. (2003) observaram em manacá-da-serra (*Tibouchina pulchra*) que somente as estacas que mantiveram as duas folhas originais enraizavam, sendo que a queda significativa de suas folhas durante o período em casa de vegetação, resultava na ausência de enraizamento.

A influência positiva da presença das folhas foi constatada por vários autores, com diferentes espécies, como Pio et al. (2004), em estacas herbáceas de figueira (*Ficus carica*), e Mindêllo Neto (2006), com pessegueiro (*Prunus persica*) cv. Charme. Xavier et al. (2003) verificaram enraizamento de 37,50% em estacas sem folhas de cedro-rosa (*Cedrela fissilis*), e de 75% a 100% com folhas. Fochesato et al. (2006), corroborando com os resultados do presente trabalho, na estaquia do louro (*Laurus nobilis* L.), obtiveram 100% de estacas mortas na ausência de folhas, e de 11,50% a 16,70% com folhas, atribuindo a mortalidade ao esgotamento das reservas, por ocasião da brotação, e à redução de hormônios alocados nas folhas.

Não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis estudadas quando comparados os tratamentos com diferentes concentrações de IBA aplicados às estacas exceto para a porcentagem de estacas com calos (Tabela 3.3). Assim o uso do IBA não foi efetivo na potencialização da rizogênese, bem como no número e comprimento de raízes por estaca, não sendo indicada a sua utilização nas concentrações testadas. Corroborando com essas informações, Rufini et al. (2002) observaram o mesmo fato em estacas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata*) bem como Nienow et al. (2010), os quais concluíram que a aplicação de ácido indol butírico é dispensável para o enraizamento de estacas de quaresmeira (*Tibouchina sellowiana*).

Tabela 3.3 - Comparação de médias das variáveis estacas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas vivas (EV), mortas (EM) e que mantiveram folhas (EMF), entre os tratamentos sob diferentes concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2012.

Tratamento	EE	NR	CMR	EV	EM	EMF
	%		cm	%	%	%
água	25,83 a	0,90 a	0,29 a	10,83 a	39,16 a	51,66 a
água + álcool	28,33 a	1,46 a	0,35 a	7,50 a	40,00 a	55,83 a
500 mg L ⁻¹ IBA	29,16 a	1,09 a	0,28 a	10,83 a	37,50 a	50,00 a
1500 mg L ⁻¹ IBA	25,00 a	1,13 a	0,19 a	13,33 a	35,83 a	51,66 a
3000 mg L ⁻¹ IBA	29,16 a	0,83 a	0,21 a	9,16 a	38,33 a	53,33 a
4500 mg L ⁻¹ IBA	30,00 a	1,27 a	0,29 a	11,66 a	32,50 a	57,50 a
6000 mg L ⁻¹ IBA	34,16 a	1,68 a	0,36 a	4,16 a	38,33 a	55,00 a
Coefficiente de Variação (%)	50,69	79,95	72,05	103,91	25,78	25,60

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

As estacas, quando induzidas ao enraizamento, comumente irão formar calos, por meio dos quais as raízes emergem. Porém, a formação das raízes adventícias e de calos são processos independentes e a sua ocorrência simultânea é explicada pelo fato de que em ambos ocorre o processo de divisão celular, o que pode depender de condições internas e ambientais (ALVARENGA; CARVALHO, 1983; HARTMANN et al., 2011).

Tabela 3.4 - Comparação de médias de interação da variável: estacas com calos de *Drimys brasiliensis* Miers entre os fatores tipo de estaca e concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2012.

Tratamentos	2 Folhas			1 Folha			Sem Folhas		
água	35,00	a	A	37,50	a	A	0,00	a	B
água + álcool	42,50	a	A	30,00	a	A	0,00	a	B
500 mg L ⁻¹ IBA	35,00	a	A	32,50	a	A	0,00	a	B
1500 mg L ⁻¹ IBA	32,50	a	A	45,00	a	A	0,00	a	B
3000 mg L ⁻¹ IBA	30,00	a	A	40,00	a	A	0,00	a	B
4500 mg L ⁻¹ IBA	40,00	a	A	37,50	a	A	0,00	a	B
6000 mg L ⁻¹ IBA	37,50	a	A	32,50	a	A	0,00	a	B
Coefficiente de Variação (%)	65,17								

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Para a variável porcentagem de estacas com calos, não houve diferença significativa para os tratamentos para as estacas confeccionadas com duas folhas, uma folha e sem folhas. No entanto, ao comparar os diferentes tipos de estacas, em todos os tratamentos, notou-se que as estacas confeccionadas sem a presença de folhas apresentaram menor porcentagem de calos (Tabela 3.4).

Esse resultado está de acordo com Leandro e Yuyama (2008) que, ao estudarem o enraizamento de estacas confeccionadas com folhas inteiras, meia-folha e sem folhas de castanhas-de-cutia (*Couepia edulis*), o uso de 0 mg L⁻¹ de IBA, 3000 mg L⁻¹ de IBA e 6000 mg L⁻¹ de IBA proporcionou maior formação de calos nas estacas com folhas inteiras e meia-folha nos três tratamentos.

Tabela 3.5 - Comparação de médias de interação da variável: estacas brotadas de *Drimys brasiliensis* Miers entre os fatores tipo de estaca e concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2012.

Tratamentos	2 Folhas			1 Folha			Sem Folhas		
água	37,50	ab	A	57,50	a	A	3,00	a	B
água + álcool	65,00	a	A	42,50	a	B	3,00	a	C
500 mg L ⁻¹ IBA	52,50	ab	A	35,00	a	A	7,50	a	B
1500 mg L ⁻¹ IBA	45,00	ab	A	45,00	a	A	8,00	a	B
3000 mg L ⁻¹ IBA	35,00	b	B	57,50	a	A	7,50	a	C
4500 mg L ⁻¹ IBA	45,00	ab	A	55,00	a	A	12,50	a	B
6000 mg L ⁻¹ IBA	47,50	ab	A	60,00	a	A	4,50	a	B
Coefficiente de Variação (%)	37,82								

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Para a variável porcentagem de estacas brotadas, não houve diferença significativa para os tratamentos para as estacas confeccionadas com uma folha e sem folhas. No entanto, para as estacas confeccionadas com duas folhas, a solução hidroalcoólica (50% água e 50% álcool) diferenciou-se apenas do tratamento com o uso de 3000 mg L⁻¹ (Tabela 3.5).

Houve uma menor brotação nas estacas confeccionadas sem folhas para todos os tratamentos ao comparar com as estacas com duas folhas e uma folha (Tabela 3.5).

As estacas confeccionadas com duas folhas apresentaram uma maior brotação quando comparadas com as com uma folha e sem folhas quando usado o tratamento solução hidroalcoólica (50% água e 50% álcool). Já o uso de 3000 mg L⁻¹ de IBA apresentou maior brotação nas estacas confeccionadas com uma folha (Tabela 3.5).

Nas estacas confeccionadas com duas folhas o tratamento com solução hidroalcoólica (50% água e 50% álcool) foi numericamente melhor que os demais tratamentos e diferenciando-se somente do uso com 3000 mg L⁻¹ de IBA (Tabela 3.5).

A brotação influencia diretamente o enraizamento de estacas (LEÃO, 2003; ROBERTO et al., 2004). Comumente, a formação de brotos acompanha a formação de raízes, porém em algumas espécies há interrupção da rizogênese com a

presença de brotos recém-formados (HARTMANN et al., 2011). No entanto para a *Drimys brasiliensis* não foi observado a interrupção da formação de raízes devido ao alto índice de enraizamento atrelada a elevada brotação nas estacas confeccionadas com duas folhas e uma folha.

3.3.2. Análises anatômicas

Não houve diferença anatômica entre as secções da base de estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis* coletadas em abril de 2012, com a presença de duas folhas, uma folha e sem folhas.

O caule encontrava-se em crescimento secundário. A epiderme é uniestratificada com cutícula espessa. A região cortical é composta externamente por cerca de duas camadas de colênquima e internamente por 10 a 12 camadas de parênquima. Na região mais interna do córtex ocorre bainha de esclerênquima em toda a extensão do córtex adjacente ao floema (Figura 3.4 D).

O floema secundário é contínuo e o xilema apresenta raios estreitos e frequentes alternados com fileiras radiais de elementos traqueais. A faixa cambial é estreita, com duas outras camadas de células indiferenciadas (Figura 3.4 A). A medula é parenquimática com esclereides isoladas ou agrupadas. Estes possuem parede moderadamente espessa, conferindo rigidez ao tecido (ESAU, 1898).

Segundo White e Lovell (1984), Ono e Rodrigues (1996) e Hartmann et al. (2011), o desenvolvimento deste anel de esclerênquima possivelmente constitui uma barreira anatômica à formação de raízes adventícias originadas do floema secundário, estando associado ao grau de maturidade das estacas, ocorrendo frequentemente em plantas de difícil enraizamento. No entanto para *Drimys brasiliensis* não foi observada esta barreira anatômica.

Fachinello et al. (2005), afirmaram que o teor de carboidratos nas estacas é variável conforme a época do ano e, geralmente os ramos mais maduros e lignificados (outono/inverno) mostram tendência de apresentar altos teores de carboidratos. No entanto, nos resultados encontrados no presente trabalho, por meio do teste histoquímico com lugol, não foi evidenciada a presença de grãos de amido, os quais poderiam já terem sido degradados (Figura 3.4 A).

O teste com cloreto férrico mostrou a presença de compostos fenólicos nas secções transversais de estacas caulinares de *Drimys brasiliensis* (Figura 3.4 C). Seriam necessários estudos detalhados para identificar a composição química destes compostos, a fim de esclarecer se estes podem ou não influenciar a resposta de enraizamento de *Drimys brasiliensis*, pois, segundo Ono e Rodrigues (1996), os compostos fenólicos podem tanto estimular (monofenóis) como inibir (polifenóis) o enraizamento de estacas. Foi possível observar a presença de lipídeos nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema, identificados pelo teste de Sudam III (figura 3.4 B).

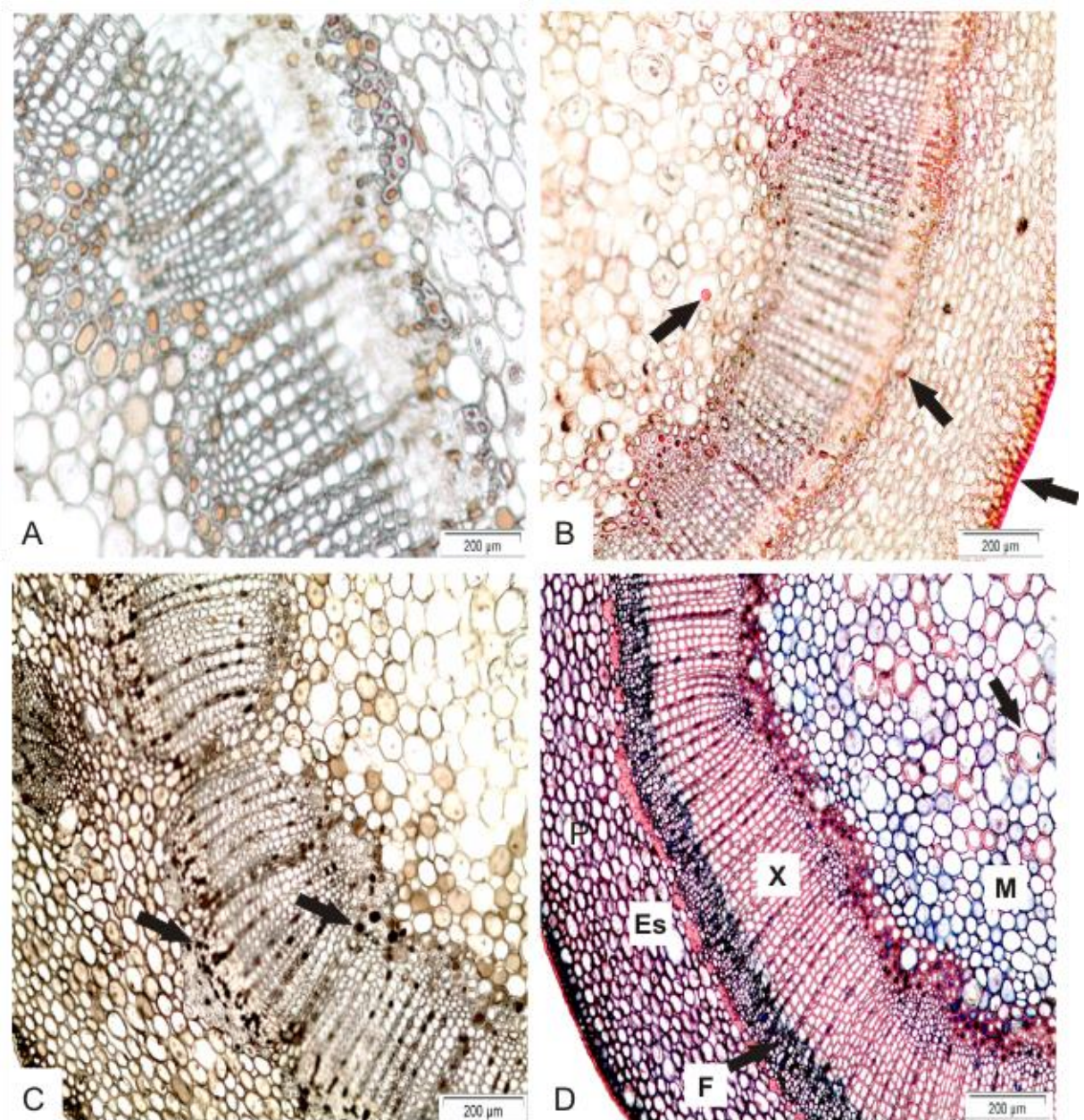


Figura 3.4 - Secções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas de *Drimys brasiliensis* coletadas no momento da avaliação: **A.** Não há presença de amido. **B.** Presença de lipídeos. **C.** Presença de compostos fenólicos. **D.** Vista geral do corte: floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereídes (Es).

3.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, pode-se concluir que, para a indução do enraizamento de estacas caulinares semilenhosas de *Drimys brasiliensis*, o melhor enraizamento foi obtido em estacas confeccionadas com a presença de duas folhas, não havendo a necessidade de aplicação de ácido indol butírico. O estudo anatômico da espécie evidenciou a presença de lipídios nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema. Houve a presença de compostos fenólicos e ausência de grãos de amido nas secções transversais das estacas. Com isso, não foram observadas barreiras anatômicas ao enraizamento das estacas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, D. C. A.; KUNIYOSHI, Y. S.; SOUZA MEDEIROS, A. C.; NOGUEIRA, A. C. Caracterização morfológica de frutos e sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers - Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 67-74, 2005.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. São Paulo: EDUSP, v. 1, 1978. 255 p.
- BEAKBANE, A. B. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. **Nature**, London, v. 192, n. 4806, p. 954-955, 1961.
- BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University, 1976. 276 p.
- BETTONI, M. M.; STORCK, R. C.; PEÑUELA, L. F.; MORAES, C. P. Propagação vegetativa de Patchouli por estaquia. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 5, p. 417-420, 2010.
- BIASI, L. A.; POMMER, C. V.; PINO, P. Propagação de porta-enxertos de videira mediante estaquia semilenhosa. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 2, p. 367-376, 1997.
- BIASI, L. A. Reguladores de crescimento vegetal. In: WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. **Fisiologia Vegetal: produção e pós-colheita**. Curitiba: Editora Champagnat, 2002. 424 p.
- 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**, Santa Maria, v. 18, n. 2, p.159-171, 2008.

CAVALHEIRO, R. C. R. O tratamento jurídico e econômico aos medicamentos fitoterápicos no Brasil e na Comunidade Européia. **Pensamento e Realidade**, v. 1, n. 19, p. 119-132, 2006.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 3, 2008. 627 p.

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**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 1-4, 2007.

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

EHRENDORFER, F.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I.; GOTTSBERGER, G. Variation on the population, racial, and species level in the primitive relic angiosperm genus *Drimys* (Winteraceae) in South America. **Plant Systematics and Evolution**, Austria, v. 132, n. 1, p. 53-83, 1979.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução Berta Lange de Morretes. 3. ed., São Paulo: Edgardv Blucher, 1898. 293 p.

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

FIELD, T. S.; ZWIENIECKI, M. A.; HOLBROOK, N. M. Winteraceae evolution: an ecophysiological perspective. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Washington, v. 87, n. 3, p. 323-334, 2000.

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 indol butírico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 72-77, 2006.

GONTIJO, T. C. A.; RAMOS, J. D.; MENDONÇA, V.; PIO, R.; ARAÚJO NETO, S. E.; CORRÊA, F. L. O. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 290-296, 2003.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

KNAPIK, J. G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; KOEHLER, H. S. Influência da época de coleta e da aplicação de ácido indol butírico na propagação por estaquia da *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. (quaresmeira). **Iheringia**, Porto Alegre, v. 58, n. 2, p. 171-179, 2003.

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**, Uberlândia, v. 24, n. 3, p. 13-18, 2008.

LEANDRO, R. C.; YUYAMA, K. Enraizamento de estacas de castanha-de-cutia com uso de ácido indolbutírico. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 597-602, 2008.

LEÃO, P. C. de S. Utilização de diferentes tipos de estacas na produção de muda s do porta-enxerto de videira. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 33, n. 1, p. 165-168, 2003.

LIONAKIS, S. M. **Physiological studies of growth and dormancy of the kiwifruit plant (*Actinidia chinensis* Planch)**. 381 f. Thesis (Ph.D. Plant Physiology), University of London, London, 1981.

LOLLI, A. P. O. Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 5., 2001, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2001. 112 p.

LONGHI, R. A. **Livro das árvores e arvoretas do sul**. Porto Alegre: L & PM, 1995. 176 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

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

NIENOW, A. A.; CHURA, G.; PETRY, C.; COSTA, C. Enraizamento de estacas de quaresmeira em duas épocas e concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 16, n. 1-4, p. 139-142, 2010.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83 p.

PAGEL, F. E. **Produção de mudas florestais por via assexuada**. Santa Rosa: ANORGS, 2004. 37 p. Caderno Didático.

PIMENTA, A. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; OLIVEIRA, B. H.; CARPANEZZI, A. A.; KOEHLER, H. S. Inteiração entre reguladores vegetais, épocas do ano e tipos de substrato no enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (Pau-de-leite). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 5, p. 53-67, 2005.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926-1978. 707 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 de desbrota. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 51-54, 2004.

RIBAS, K. C. **Interações entre auxinas e co-fatores do enraizamento na promoção do sistema radicular, em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. 150 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

ROBERTO, S. R.; PEREIRA, F. M.; NEVES, C. S. V. J.; JUBILEU, B. S.; AZEVEDO, M. C. B. Enraizamento de estacas herbáceas dos porta-enxertos de videira

Campinas (IAC 766) e Jales (IAC 572) em diferentes substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1633-1636, 2004.

RUFINI, J. C. M.; PIO, R.; RAMOS, J. D.; GONTIJO, T. C. A.; MENDONÇA, V.; COELHO, J. H. C.; ÁLVARES, B. F. Influência da sacarose e do ácido indolbutírico na propagação do maracujazeiro-doce por estaquia. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 7, n. 2, p. 122-127, 2002.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2 ed. Iowa: State College Press, 1951. 228 p.

SCHEIDT, C.; SANTOS, A. R. S.; FERREIRA, J.; MALHEIROS, A.; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Evidence for the involvement of glutamatergic receptors in the antinociception caused in mice by the sesquiterpene drimaniol. **Neuropharmacology**, New York, v. 43, n. 3, p. 340-347, 2002.

SCHULTZ, R. A. **Os nomes científicos e populares das plantas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: PUC, 1975. 164 p.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1986. 147 p.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: BR Petrobras, 1997. 19 p.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; OLIVEIRA, M. L. de. Enraizamento de miniestaca caular e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 351-356, 2003.

WHITE, J.; LOVELL, P. H. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. **Annals of Botany**, Londres, v. 54, n. 1, p. 7-20, 1984.

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

4. CAPITULO II: ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES SEMILENHOSAS DE *Drimys brasiliensis* Miers ORIUNDAS DE BROTAÇÕES DO ANO NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

RESUMO

Drimys brasiliensis Miers (Winteraceae) é uma espécie pertencente à família Winteraceae, popularmente conhecida como cataia. *Drimys* significa picante devido ao sabor da casca aromática e *brasiliensis* é uma alusão ao seu habitat. Possui valor na medicina popular brasileira, sendo utilizada como estimulante, aromática, antifebril, dentre outros. Por apresentar dormência em suas sementes, devido à imaturidade embrionária, a produção de mudas de cataia em larga escala constitui uma problemática de propagação da espécie. Assim, a estaquia foi utilizada como uma possível técnica visando à diminuição do tempo de obtenção das mudas e possibilitando a uniformidade de enraizamento. Estacas caulinares de brotações do ano de plantas matrizes de *Drimys brasiliensis* com aproximadamente cinco anos de idade foram coletadas nas quatro estações do ano (outono/2012, inverno/2012, primavera/2012 e verão/2013), confeccionadas com 10-12 cm de comprimento, corte em bisel na base e reto no ápice, mantendo-as com duas folhas com sua área reduzida a metade. Após a desinfestação, as bases das estacas foram submetidas aos seguintes tratamentos com ácido indol butírico (IBA) em solução hidroalcoólica 50%, por 10 segundos de imersão: 100% água, 0 mg L⁻¹IBA, 500 mg L⁻¹IBA, 1500 mg L⁻¹IBA, 3000 mg L⁻¹IBA, 4500 mg L⁻¹IBA e 6000 mg L⁻¹IBA. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 4x7 (4 estações do ano x 7 concentrações de IBA), com quatro repetições contendo 20 estacas por unidade experimental. As estacas foram acondicionadas em tubetes contendo vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada (1:1), mantidas em casa de vegetação. Após 120 dias, avaliou-se a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes por estaca, porcentagem de estacas com calos, vivas, mortas, com novas brotações e que mantiveram suas folhas originais. Foram ainda coletadas amostras da base de 10 miniestacas com aproximadamente 2,0 cm de comprimento, as quais foram fixadas em FAA 70 e conservadas em álcool 70% até a confecção das lâminas para a realização da análise e descrição anatômica. A aplicação de IBA não influenciou nenhuma das variáveis estudadas. As estacas coletadas no inverno/2012 apresentaram melhor enraizamento (46,96%) e menor porcentagem de estacas mortas (11,07%) quando comparadas com as estacas coletadas nas demais estações. A estaquia realizada nas épocas do outono/2012, primavera/2012 e verão/2013 não se mostrou viável para a produção de mudas de cataia, visto que nessas épocas houve maior porcentagem de mortalidade. Não foram observadas barreiras anatômicas para a emissão de novas raízes.

Palavras-chave: Winteraceae; cataia; ácido indol butírico; estaquia.

ROOTING OF SEMIHARDWOOD STEM CUTTINGS OF *Drymis brasiliensis* Miers OBTAINED FROM CURRENT-YEAR SHOOTS COLLECTED IN FOUR SEASONS OF THE YEAR

ABSTRACT

Drymis brasiliensis Miers is a species of the Winteraceae family, commonly known as cataia or pepper bark. *Drymis* means spicy, due to the flavor of the aromatic bark and *brasiliensis* is an allusion to its habitat. It is appreciated in the Brazilian popular medicine, being used as a stimulant, aromatic, antipyretic and other applications. Since it presents seed dormancy due to embryonal immaturity, the large scale production of pepper bark seedlings is an issue concerning species propagation. Thus, cuttings propagation was used as a possible technique to solve the problem, reduce the time needed for seedlings production and to make the rooting uniformity possible. Stem cuttings, obtained from current-year shoots of *Drymis brasiliensis* stock plants approximately five years old, were collected in the four seasons of the year (autumn/2012, winter/2012, spring/2012 and summer/2013), prepared with a length of 10-12 cm, a bevel cut on the base and a straight cut on top, keeping two leaves with halved surface. After disinfection, bases of cuttings were submitted to the following treatments with indolebutyric acid (IBA) in 50% hydroalcoholic solution, all through 10 seconds immersion: 100% water, 0 mg L⁻¹ IBA, 500 mg L⁻¹ IBA, 1500 mg L⁻¹ IBA, 3000 mg L⁻¹ IBA, 4500 mg L⁻¹ IBA and 6000 mg L⁻¹ IBA. The experiment had a completely randomized design, with factorial arrangement 3x7 (3 types of cuttings x 7 IBA concentrations), with four repetitions of 10 cuttings per experimental unit. Cuttings were accommodated in plastic pots containing fine vermiculite and carbonized rice shell (1:1) and maintained in a greenhouse. After 120 days, evaluation of the following variables was performed: percentage of rooted cuttings, number of roots per cutting, length of the three longest roots per cutting, percentage of cuttings with callus, number of alive and dead, cuttings with new shoots and number of cuttings that maintained the original leaves. Furthermore, samples from the base of 10 minicuttings, with a length of approximately 2.0 cm, were collected, fixed in FAA 70 and preserved in alcohol 70% until the preparation of slides for the anatomical analysis and description. Application of IBA had no influence on any of the described variables. Cuttings collected in winter/2012 presented the best rooting percentage (46.96%) and the lowest percentage of mortality (11.07%), when compared to the ones collected in the other seasons. Cuttings collected in autumn/2012, spring/2012 and summer/2013 were not viable for pepper bark seedlings production because in these seasons there was the highest percentage of mortality. There were no observed anatomical barriers to new roots emission.

Key words: Winteraceae; pepper bark; indolebutyric acid; cutting.

4.1. INTRODUÇÃO

Drimys brasiliensis Miers é uma espécie pertencente à família Winteraceae (CRONQUIST, 1981), sendo considerada como o único representante desta família no Brasil (VATTIMO, 1961).

O nome *Drimys* significa picante, em grego, devido ao sabor da casca aromática e *brasiliensis* é uma alusão ao seu habitat (TRINTA; SANTOS, 1997)

Para Klein (1980) a espécie é uma árvore característica das matas dos campos (Savana) e dos subosques dos pinhais (Floresta Ombrófila Mista), podendo ser encontrada nos topos de morro da região da Floresta Ombrófila Densa da Mata Atlântica. Foi encontrada, ainda, como sendo uma espécie rara, no interior da Floresta Ombrófila Densa de terras baixas e nas planícies próximas ao litoral, onde suas folhas em geral são bem maiores e, sobretudo, mais largas. Em algumas florestas primárias a espécie é dominante, porém dependente de clareiras para a sua regeneração (SMITH-RAMIREZ; ARMESTO, 1994).

Segundo Scheidt et al. (2002), as espécies do gênero *Drimys* possuem valor de uso na medicina popular brasileira, sendo utilizadas como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em algumas afecções do trato digestivo (SIMÕES et al., 1986). Suas sementes são reniformes, de coloração negro-brilhante e com grande quantidade de endosperma, apresentando dormência, o que constitui num problema para análise de sementes e produção de mudas. Sua dormência se deve à imaturidade embrionária, pois seus embriões são rudimentares e com isso necessitam de um período adicional para completar seu desenvolvimento antes de se tornarem aptos a germinar (ABREU et al.; 2005).

Devido à dificuldade de produção de mudas via sementes, a estaquia passa a ser uma técnica recomendada para a produção de mudas em larga escala, uma vez que há ainda uniformidade de enraizamento, precocidade de floração das mudas, além da redução do período juvenil das mesmas (SANTOS et al., 2010; HARTMANN et al., 2011).

O enraizamento de estacas é influenciado por diversos fatores; um destes fatores é a concentração ótima de auxina endógena associada a aplicação de reguladores vegetais, a qual favorece a rizogênese. O tipo de estaca a ser utilizado,

bem como a estação do ano de coleta dos propágulos vegetais também alteram as taxas de enraizamento (LISINGEN et al., 2000; CARPANEZZI et al., 2001; FERREIRA et al., 2001; ZUFFELLATO-RIBAS et al., 2002).

Os reguladores vegetais sintéticos do grupo das auxinas são substâncias que auxiliam no enraizamento de estacas (SANTOS et al., 2010), promovem o aumento da porcentagem de estacas enraizadas, acelerando o tempo de formação das raízes e diminuem a permanência das estacas no leito de enraizamento (ALVARENGA; CARVALHO, 1983).

Porém, algumas espécies vegetais em função do tamanho, idade e reserva de carboidratos presente nas estacas, tornam-se insensíveis ao efeito estimulante da auxina sintética. Isto está correlacionado com a mudança na concentração endógena de auxina (SANTOS et al., 2010).

A época do ano também está relacionada com a consistência da estaca (NORBERTO et al., 2001) podendo exercer influência sobre o enraizamento (FANTI, 2008). Para algumas espécies de fácil enraizamento, as estacas podem ser coletadas em qualquer época do ano; no entanto para outras, o período de maior enraizamento coincide com a estação de repouso ou com a estação de crescimento. Para cada espécie é necessário determinar a melhor estação do ano a fim de realizar a coleta do material para confecção das estacas, a qual está diretamente relacionada com a condição fisiológica da planta matriz (HARTMANN et al., 2011).

O conhecimento da estrutura interna do caule na estaquia é importante devido permitir detectar a dificuldade de enraizamento, a fim de que caso exista uma barreira, essa possa ser superada (ONO; RODRIGUES, 1996).

Além destes fatores, o sucesso do enraizamento está relacionado à estrutura interna do caule das espécies utilizadas na estaquia, pois algumas espécies possuem um anel de fibras composto por células esclerenquimáticas, de parede bastante lignificada, que sustentam a planta. Estacas com baixo potencial de enraizamento estão relacionadas a estes tecidos com grande quantidade de fibras e esclereídes (BEAKBANE, 1961; HARTMANN et al., 2011).

Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar as respostas de enraizamento de estacas de *Drimys brasiliensis*, coletadas de material oriundo de brotação do ano, nas quatro estações do ano, com o uso de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA), descrevendo a anatomia das estacas utilizadas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Estaquia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Propagação de Espécies Florestais da Embrapa Florestas, localizada em Colombo (PR).

O material vegetativo de *Drimys brasiliensis* Miers, depositado no herbário da Embrapa Florestas sob o número HFC n° 7963, foi coletado a partir de plantas matrizes de aproximadamente cinco anos de idade, com média de 2,86 m de altura (Figura 4.1 A), cultivadas na Fazenda Experimental da Embrapa Florestas, em Colombo (PR), sob as coordenadas 25°19'16" de latitude Sul e 49°09'31" de longitude Oeste. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb, isto é, clima caracterizado como temperado úmido com temperatura média do mês mais quente acima de 10 °C, com verões suaves e inverno com geadas frequentes e tendência de concentração de chuvas nos meses de verão, contundo sem estação seca definida.

Ramos de *Drimys brasiliensis* oriundos de brotações do ano de 16 plantas matrizes foram coletados nos dias 02 de abril de 2012 (outono), 02 de julho de 2012 (inverno), 03 de outubro de 2012 (primavera) e 09 de janeiro de 2013 (verão), sendo confeccionadas estacas caulinares semilenhosas com aproximadamente 10-12 cm de comprimento, com corte em bisel na base e reto no ápice mantendo duas folhas na porção apical com sua área reduzida a metade (Figura 4.1 B). Durante o processo de confecção, as estacas foram mantidas em balde com água a fim de evitar a desidratação do material.

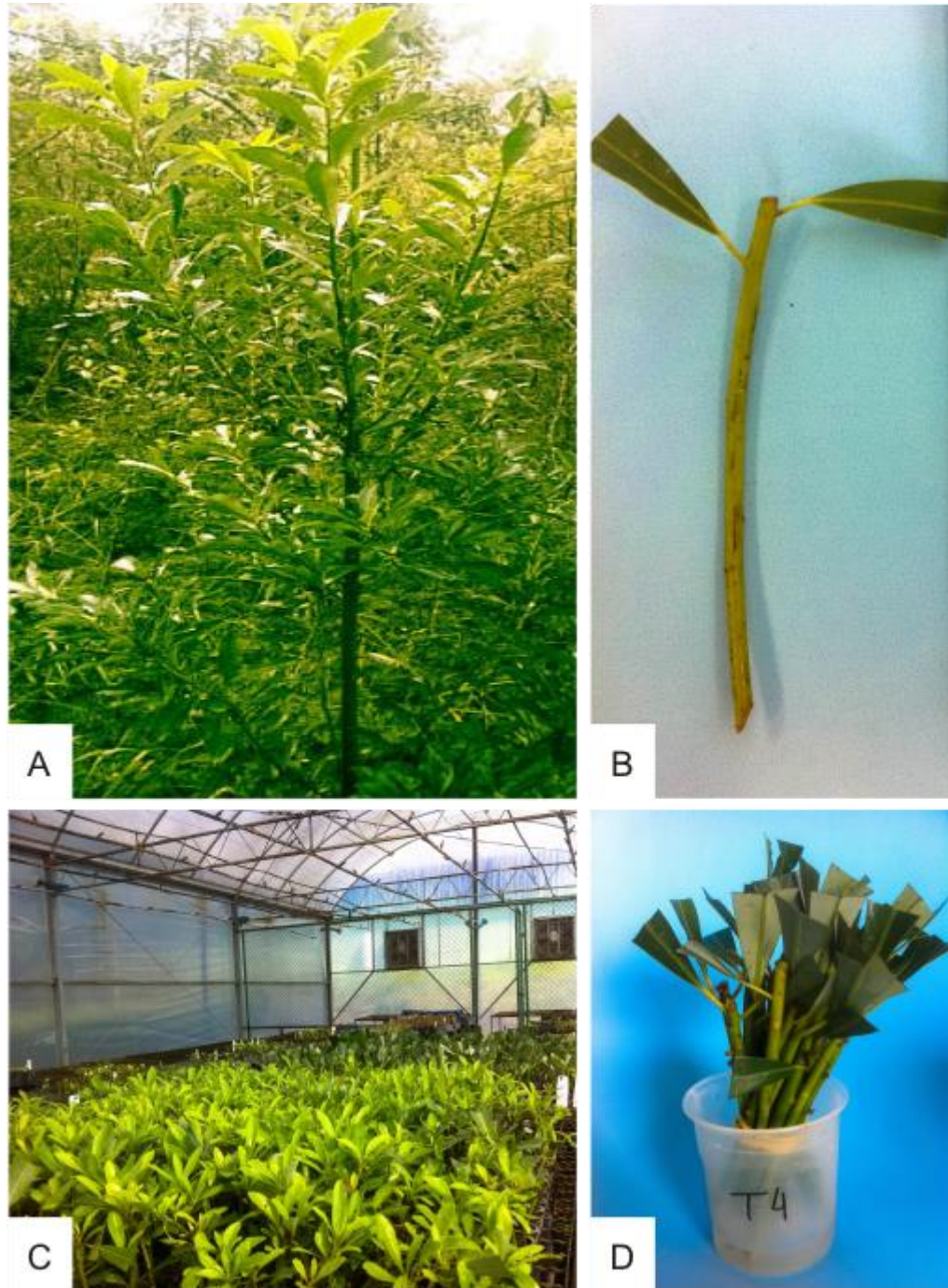


Figura 4.1 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Planta matriz. **B.** Estaca semilenhosa. **C.** Experimento instalado. **D.** Imersão das estacas em IBA.

Posteriormente, as estacas foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 0,5% durante 10 minutos, seguido de lavagem em água corrente por 5 minutos. As estacas foram então imersas em uma solução com fungicida Derosal® 500 SC 0,1% por 5 minutos.

Logo após, as bases das estacas foram tratadas com o regulador vegetal ácido indol butírico (IBA) (Figura 4.1 D), em solução hidroalcoólica 50%, por 10

segundos de imersão, conforme os seguintes tratamentos: 100% água (testemunha), 0 mg L⁻¹IBA, 500 mg L⁻¹IBA, 1500 mg L⁻¹IBA, 3000 mg L⁻¹IBA, 4500 mg L⁻¹IBA e 6000 mg L⁻¹IBA.

As estacas dos tratamentos 100% água (testemunha) e 0 mg L⁻¹ IBA foram imersas em solução de água destilada (100%) e solução hidroalcoólica 50% (50% água e 50% álcool), respectivamente, sem adição de regulador vegetal. Nos demais tratamentos, o ácido indol butírico P.A. utilizado foi proveniente do Laboratório Sigma.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com capacidade de 53 cm³, preenchidos com vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada (1:1), sendo as estacas plantadas a cerca de 1/3 de profundidade da base das mesmas, mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de 24 °C ±2 °C e 80% de umidade relativa do ar), pertencente a Embrapa Florestas, em Colombo (PR) (Figura 4.1 C).

O experimento foi implantado segundo um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 4x7 (4 estações do ano x 7 concentrações de IBA), com quatro repetições contendo 20 estacas por unidade experimental, totalizando 560 estacas por estação do ano.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Após o período de 120 dias da instalação do experimento, foram avaliadas as seguintes variáveis:

- I. Porcentagem de estacas enraizadas (estavas vivas que emitiram raízes de pelo menos 1 mm de comprimento);
- II. Número de raízes por estaca;
- III. Comprimento das três maiores raízes por estaca (cm);
- IV. Porcentagem de estacas com calos (estacas vivas, sem raízes, com formação de massa celular indiferenciada na base);
- V. Porcentagem de estacas vivas (estacas sem a presença de calos e sem raízes);
- VI. Porcentagem de estacas mortas (estacas com tecidos necrosados);

- VII. Porcentagem de estacas brotadas (estacas vivas, com ou sem raízes e calos, que apresentavam brotações de novas folhas);
- VIII. Porcentagem de estacas que mantiveram suas folhas (estacas vivas, com ou sem raízes e calos, que mantiveram as folhas originais no momento da avaliação).

4.2.2. Análises Anatômicas

Para análise anatômica, ao final dos 120 dias do experimento, no momento da avaliação, foram coletadas amostras da base de 10 estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis*, nas estações do outono, inverno, primavera e verão. Essas com aproximadamente 2,0 cm de comprimento foram fixadas em FAA 70 (JOHANSEN, 1940), por 24 horas e conservadas em álcool 70%. Fragmentos de 1,0 cm foram infiltrados em PEG (polietilenoglicol 1500). Estes blocos foram fixados em tutores de madeira e seccionados em micrótomo de rotação (Olympus CUT 4055) com 20 µm de espessura e submergidos em água destilada para dissolução do PEG. Os cortes foram selecionados e submetidos aos testes histoquímicos, com lugol (BERLYN; MIKSCHE, 1976), para identificação do amido, cloreto férrico (JOHANSEN, 1940), para a identificação de compostos fenólicos e Sudam III (SASS, 1951) para a identificação de lipídeos. O restante dos cortes foi corado com safrablau para identificação dos tecidos (BUKATSCH, 1972).

As lâminas foram montadas de forma semipermanentes com gelatina glicerizada e vedadas com esmalte incolor. Para a documentação dos resultados foram obtidas fotomicrografias em fotomicroscópio Zeiss com câmera SC 30 Olympus, realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, UFPR, Curitiba (PR).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Estaquia

Para as variáveis analisadas porcentagem de enraizamento, número médio de raízes por estaca, comprimento médio de raízes por estaca, porcentagem de estacas com calos, vivas, mortas, com brotação e que mantiveram as folhas originais na estaca, não houve interação entre os fatores analisados, demonstrando que estes são independentes. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para todas as variáveis para as estações do ano (Tabela 4.1).

Com relação à estação do ano estudada, todas as variáveis apresentaram diferença significativa. Como se observa na Figura 4.2, a estação do inverno/2012 apresentou melhor enraizamento (46,96%) quando comparada com as demais estações (Tabela 4.2).

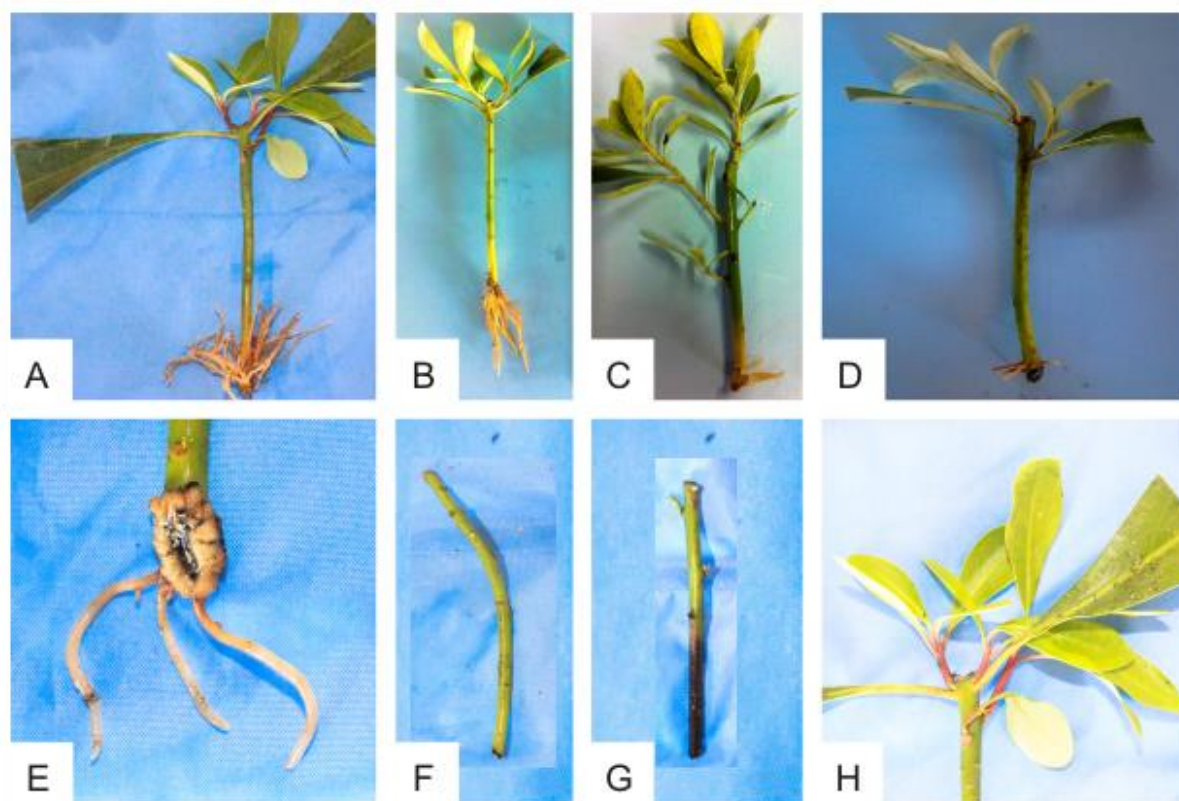


Figura 4.2 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Estaca enraizada, confeccionada no outono/2012. **B.** Estaca enraizada, confeccionada no inverno/2012. **C.** Estaca enraizada, confeccionada na primavera/2012. **D.** Estaca enraizada, confeccionada no verão/2013. **E.** Estaca com calo e enraizada. **F.** Estaca viva. **G.** Estaca morta. **H.** Detalhe de brotação em estaca.

Tabela 4.1 - Resultados da análise de variância para as variáveis de estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número médio de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, tratadas com ácido indol butírico (IBA), Curitiba (PR), 2013.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio							
		EE	NR	CMR	EC	EV	EM	EB	EMF
		%		cm	%	%	%	%	%
Estações do Ano	3	5071,72 ^{**}	68,21 ^{**}	0,28 ^{**}	3810,71 ^{**}	353,57 ^{**}	11952,67 ^{**}	12468,08 ^{**}	6519,94 ^{**}
Concentração de IBA	6	107,73 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,02 ^{ns}	86,30 ^{ns}	49,33 ^{ns}	192,70 ^{ns}	142,41 ^{ns}	118,60 ^{ns}
Estações do Ano x Concentração de IBA	18	104,36 ^{ns}	1,08 ^{ns}	0,01 ^{ns}	106,54 ^{ns}	43,67 ^{ns}	132,88 ^{ns}	122,76 ^{ns}	158,48 ^{ns}
Tratamento	27	657,04 ^{**}	8,47 ^{**}	0,04 ^{**}	513,62 ^{**}	79,36 ^{ns}	1459,49 ^{**}	1498,83 ^{**}	856,44 ^{**}
Erro	84	154,61	0,86	0,01	103,27	63,98	166,66	169,56	210,41
Total	111								
Coeficiente de Variação (%)		43,93	47,56	69,73	52,69	75,93	30,83	23,17	42,87
Teste de Bartlett (X²)		25,55 ^{ns}	37,84 ^{ns}	32,31 ^{ns}	28,12 ^{ns}	21,39 ^{ns}	27,87 ^{ns}	25,72 ^{ns}	27,43 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

Tabela 4.2 - Comparação de médias das variáveis de estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, Curitiba (PR), 2013.

Estação do Ano	EE	NR	CMR	EC	EV	EM	EB	EMF
	%		cm	%	%	%	%	%
Outono	25,71 b	1,41 b	0,22 a	10,53 c	10,00 ab	53,75 a	45,53 b	21,07 b
Inverno	46,96 a	4,24 a	0,29 a	35,17 a	6,78 b	11,07 b	87,85 a	51,42 a
Primavera	25,71 b	1,41 b	0,22 a	10,53 c	10,00 ab	53,75 a	45,53 b	21,07 b
Verão	14,82 c	0,73 c	0,05 b	20,89 b	15,35 a	48,92 a	45,89 b	41,78 a
Coefficiente de Variação (%)	43,93	47,56	69,73	52,69	75,93	30,83	23,17	42,87

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

As estações do ano podem interferir na taxa de enraizamento da estaca visto que o estado nutricional e metabólico de cada espécie pode alterar de acordo com o ambiente.

Estes resultados mostraram melhores índices de enraizamento na estação em que se verificaram menores temperaturas, período no qual a planta matriz provavelmente se encontrava em repouso vegetativo e consequentemente maior acúmulo de reservas. O crescimento das estacas está relacionado a dois fatores: o de possuir reservas suficientes as quais proporcionam sua sobrevivência e o de possuir reservas suficientes para iniciar o desenvolvimento de brotos e folhas (BROWSE, 1979).

Para Corrêa e Fett-Neto (2004), a temperatura pode influenciar o enraizamento, atuando, sobretudo, na absorção de nutrientes e no metabolismo, especialmente em regiões de clima subtropical.

De acordo com Taiz e Zeiger (2013), há uma maior síntese de auxinas nos meristemas apicais, bem como em gemas e folhas jovens. No entanto, a estação do ano em que foi verificado maior desenvolvimento vegetativo das brotações (verão/2013), foi a que proporcionou menor porcentagem de enraizamento (14,82%) (Tabela 4.2).

Corroborando com os resultados do presente trabalho, Bitencourt (2006) estudando a propagação vegetativa de ginko (*Ginkgo biloba*), encontrou melhor enraizamento na estação do inverno (15%), mesmo este tendo sido baixo.

O número de raízes por estaca é um fator importante a ser considerado, uma vez que as mudas com melhor sistema radicial terão maiores chances de sobrevivência e desenvolvimento mais vigoroso e rápido, proporcionando melhor fixação quando transplantadas para o campo, o que diminui a perda por mortalidade (REIS et al., 2000).

Os melhores resultados para a variável número de raízes por estaca de *Drimys brasiliensis* foram observados no inverno/2012 com 4,24 diferindo estatisticamente do outono/2012 (1,41), primavera/2012 (1,41) e verão/2013 (0,73) (Tabela 4.2). Isto mostra que na estação do ano em que houve maior porcentagem de estacas enraizadas, o sistema radicial também se apresentou mais desenvolvido.

Para o comprimento médio das três maiores raízes por estaca não houve diferença significativa entre as estações de outono/2012, inverno/2012 e primavera/2012, sendo que o verão/2013 foi o que apresentou menor comprimento médio com 0,05 cm/estaca (Tabela 4.2). Estes resultados mostram que o reduzido comprimento médio no verão/2013 está atrelado ao baixo índice de enraizamento.

Para a variável número de raízes formadas por estaca, o inverno/2012 também foi a melhor estação do ano para a formação de estacas com calos, apresentando 35,17%, diferindo estatisticamente das demais estações (Tabela 5). Para *Drimys brasiliensis*, o surgimento desse tecido com células indiferenciadas é uma condição para a posterior formação de raízes adventícias.

Comumente, quando as estacas apresentavam calos havia a ocorrência simultânea do enraizamento. Isto se explica pelo fato de que em ambos os casos ocorre o processo de divisão celular, o que depende das condições internas e ambientais favoráveis (ALVARENGA; CARVALHO, 1983; HARTMANN et al., 2011).

A estaquia nas épocas do outono/2012, primavera/2012 e verão/2013 não se mostrou viável para a produção de mudas de *Drimys brasiliensis*, visto que foram nestas épocas em que houve maior porcentagem de estacas mortas com 53,75%, 53,75% e 48,92%, respectivamente (Tabela 4.2). O alto índice de mortalidade nestas épocas do ano provavelmente está relacionado à temperatura. Corroborando com estes resultados, Ferriani (2006) estudando a estaquia de vassourão-branco

(*Piptocarpha angustifolia* DUSÉN) também obteve alta mortalidade nas estações de outono, primavera e verão.

As novas brotações de folhas influenciam diretamente o enraizamento de estacas (LEÃO, 2003; ROBERTO et al., 2004), pois em algumas espécies, há interrupção da rizogênese com a formação de novas brotações.

Segundo Hartmann et al. (2011), para algumas espécies, o consumo de reservas utilizadas para formação de brotações prejudicam o enraizamento. No presente trabalho observa-se que para *Drimys brasiliensis*, na estação do inverno/2012, a alta porcentagem de estacas brotadas (87,85%) não influenciou no enraizamento, sendo encontrada neste tratamento 46,96% de enraizamento.

As maiores porcentagens de estacas que mantiveram as suas folhas originais foram encontradas nas estações de inverno/2012 (51,42%) e verão/2013 (41,78%) (Tabela 4.2).

Segundo Nienow et al. (2010), a presença das folhas se evidencia como um aspecto importante no enraizamento e é possível que a manutenção das folhas durante todo o processo de enraizamento possa contribuir para a maior produção de fotoassimilados, auxinas e co-fatores. No entanto, no presente trabalho observou-se que apenas a manutenção das folhas não foi suficiente para o enraizamento, pois no verão mesmo com alta porcentagem de estacas que mantiveram suas folhas (41,78%), houve um baixo enraizamento (14,2%) (Tabela 4.2). Isto mostra que para a cataia existe uma interação entre os fatores externos e internos para um bom enraizamento.

Com relação às diferentes concentrações de IBA estudadas, não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis (Tabela 4.3). Com isso constatou-se neste experimento que não é viável a utilização de IBA para o enraizamento de estacas de *Drimys brasiliensis* em qualquer estação do ano.

Embora o ácido indol butírico seja considerado um dos reguladores menos fitotóxicos às plantas, favorecendo em muitas espécies o enraizamento, em videira (*Vitis rotundifolia*) cv. Magnólia e Topsail, e, em estacas de figueira 'Roxo de Valinhos' (*Ficus carica*), foram encontrados resultados negativos com a utilização de 1200 mg Kg⁻¹ ou aumento de sua concentração (ARAÚJO et al., 2005; BIASI; BOSZCZOWSKI, 2005; HARTMANN et al., 2011).

Tabela 4.3 - Comparação de médias das variáveis de estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número de raízes por estaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, entre os tratamentos sob diferentes concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2013.

Tratamentos	EE	NR	CMR	EC	EV	EM	EB	EMF
	%		cm	%	%	%	%	%
água	26,25 a	1,85 a	0,15 a	18,43 a	11,25 a	44,06 a	54,37 a	37,18 a
água + álcool	25,00 a	1,69 a	0,19 a	18,12 a	10,00 a	46,87 a	51,87 a	30,00 a
500 mg L ⁻¹ IBA	31,87 a	2,24 a	0,23 a	15,93 a	11,87 a	40,31 a	58,43 a	36,56 a
1500 mg L ⁻¹ IBA	26,25 a	2,13 a	0,17 a	20,62 a	11,25 a	41,87 a	56,25 a	33,75 a
3000 mg L ⁻¹ IBA	30,62 a	2,07 a	0,26 a	19,37 a	12,81 a	37,18 a	59,68 a	35,62 a
4500 mg L ⁻¹ IBA	28,12 a	1,99 a	0,19 a	19,06 a	8,43 a	44,37 a	53,75 a	32,18 a
6000 mg L ⁻¹ IBA	30,00 a	1,66 a	0,16 a	23,43 a	8,12 a	38,43 a	59,06 a	31,56 a
Coeficiente de Variação (%)	43,93	47,56	69,73	52,69	75,93	30,83	23,17	42,87

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

4.3.2. Análises anatômicas

Analizando as secções da base de estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis* coletadas nas estações do outono/2012, inverno/2012, primavera/2012 e verão/2013, não houve diferença anatômica entre elas.

O caule encontrava-se em crescimento secundário. A epiderme é uniestratificada com cutícula espessa. A região cortical é composta externamente por cerca de duas camadas de colênquima e internamente por 10 a 12 camadas de parênquima. Na região mais interna do córtex ocorre bainha de esclerênquima em toda a extensão do córtex adjacente ao floema (Figura 4.3 D).

O floema secundário é contínuo e o xilema apresenta raios estreitos e frequentes alternados com fileiras radiais de elementos traqueais. A faixa cambial é

estreita, com duas outras camadas de células indiferenciadas (Figura 4.3 A). A medula é parenquimática com esclereides isoladas ou agrupadas. Estes possivelmente constituem uma barreira anatômica ao enraizamento, uma vez que a formação deste tecido está associada à maturidade da planta (HARTMANN et al., 2011). No entanto não foi observada esta barreira para o enraizamento de *Drimys brasiliensis*.

Por meio do teste histoquímico com lugol não foram evidenciadas a presença de grãos de amido, portanto este não é um fator que justifique a capacidade de enraizamento (Figura 4.3 A).

O teste com cloreto férrico mostrou a presença de compostos fenólicos nas secções transversais de estacas caulinares de *Drimys brasiliensis* (Figura 4.3 C). Seriam necessários estudos detalhados para identificar a composição química destes compostos, a fim de esclarecer se estes podem ou não influenciar a resposta de enraizamento de *Drimys brasiliensis*, pois, segundo Ono e Rodrigues (1996), os compostos fenólicos podem tanto estimular (monofenóis) como inibir (polifenóis) o enraizamento de estacas. Foi possível observar a presença de lipídeos nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema, identificados pelo teste de Sudam III (figura 4.3 B).

Como não foi realizada a ontogênese da espécie, nota-se pela Figura 4.3 E, que provavelmente é a partir das células do câmbio que ocorre a emissão das raízes de *Drimys brasiliensis*. Resultados similares foram obtidos por Lopes (1995) em estacas de mangueira (*Mangifera indica*) em que as raízes adventícias surgiam nas proximidades do câmbio vascular.

Sabe-se, pela literatura, que existem dois possíveis padrões de formação de raízes adventícias: um por meio do desenvolvimento direto da raiz a partir dos tecidos caulinares, e outro, que consiste num processo indireto, com formação de calos antecedendo a formação das raízes (ALTAMURA, 1996). No caso da rizogênese de *Drimys brasiliensis*, foi verificada a participação dos tecidos vasculares, mais provavelmente do câmbio, na formação das raízes adventícias. Ao longo das avaliações dos experimentos, um fato constante observado foi à emissão de raízes adventícias em estacas que apresentavam previamente a formação de calos em sua base.

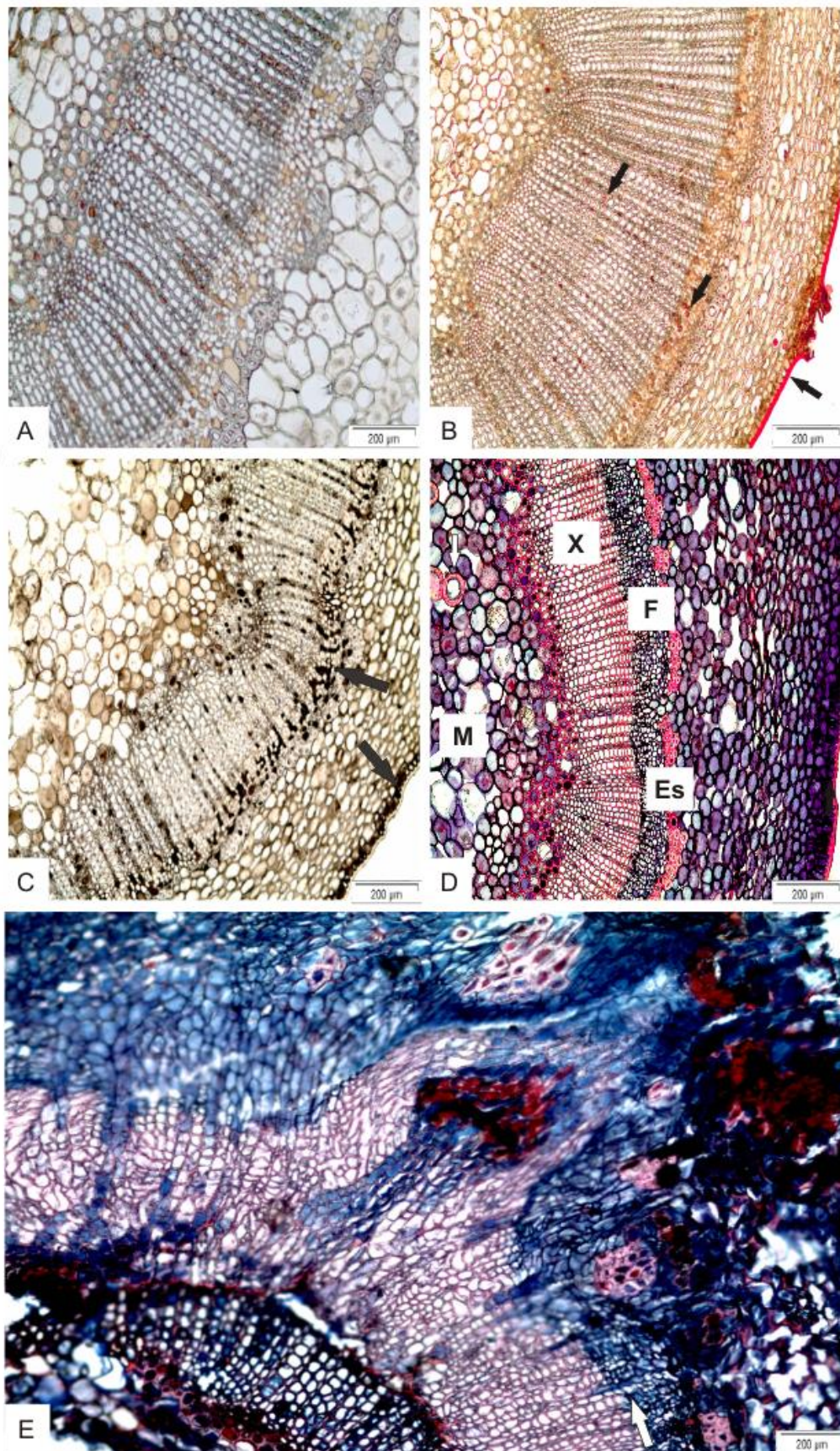


Figura 4.3 - Secções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas de *Drimys brasiliensis*: **A.** Não há presença de amido. **B.** Presença de lipídeos. **C.** Presença de compostos fenólicos. **D.** Vista geral do corte: floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereídes (Es). **E.** Provavel emissão da raíz pelo câmbio.

4.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, pode-se concluir que, para a indução do enraizamento de estacas semilenhosas de *Drimys brasiliensis*, o melhor enraizamento foi obtido em estacas coletadas no inverno, não havendo necessidade de aplicação do ácido indol butírico para o enraizamento das estacas. O estudo anatômico da espécie evidenciou a presença de lipídios nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema. Houve a presença de compostos fenólicos e ausência de grãos de amido nas secções transversais das estacas. Com isso, não foram observadas barreiras anatômicas ao enraizamento das estacas provenientes de brotações do ano em nenhuma das estações estudadas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, D. C. A.; KUNIYOSHI, Y. S.; SOUZA MEDEIROS, A. C.; NOGUEIRA, A. C. Caracterização morfológica de frutos e sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers - Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 67-74, 2005.
- ALTAMURA, M. M. Root histogenesis in herbaceous and woody explants cultured in vitro. A critical review. **Agronomie**, Paris, v. 16, n. 10, p. 589-602, 1996.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.
- ARAÚJO, J. P. C. de; PIO, R.; SCARPARE FILHO, J. A.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; ALVES, A. S. R. Propagação da figueira por estaquia tratadas com AIB. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 2, p. 59-63, 2005.
- BEAKBANE, A. B. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. **Nature**, London, v. 192, n. 4806, p. 954-955, 1961.
- BERLYN, G. P.; MIKSCH, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University, 1976. 276 p.
- BIASI, L. A.; BOSZCZOWSKI, B. Propagação por estacas semilenhosas de *Vitis rotundifolia* cvs. Magnólia e Topsail. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 405-407, 2006.
- BITENCOURT, J. **Propagação vegetativa de *Ginkgo biloba* L. (GINKGOACEAE)**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- BROWSE, P. M. A. **Propagação das Plantas**. Grã-Bretanha: Sociedade Real de HortiFruti da Grã-Bretanha, 1979. 229 p.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 14, n. 3, p. 255, 1972.

CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; SOUSA, V. A. **Estaquia de corticeira do banhado (*Erythrina crista-galli* L.)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. 6 p. Comunicado Técnico, 64.

CORRÊA, L. R.; FETT-NETO, A. G. Effects of temperature on adventitious root development in microcuttings of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. **Journal of Thermal Biology**, Grã-Bretanha, v. 29, n. 6, p. 315-324, 2004.

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

FANTI, F. P. **Aplicação de extratos de folhas e de tubérculos de *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) e de auxinas sintéticas na estaquia caular de *Duranta repens* L. (Verbenaceae)**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; BOEGER, M. R. T.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 11-16, 2001.

FERRIANI, A. P. **Estaquia de Vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* DUSÉN) com o uso de ácido indol butírico**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

KLEIN, R. M. Ecologia da flora e vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia**, Itajaí, v. 32, n. 32, p. 165-389, 1980.

LEÃO, P. C. de S. Utilização de diferentes tipos de estaca na produção de mudas do porta-enxerto de videira, CV. IAC 572 'Jales'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 165-168, 2003.

LINSINGEN, L. VON; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R. Propagação vegetativa de *Erythrina speciosa* (Andrews) através do uso de fitorreguladores. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 51, 2000, Brasília, **Resumos...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 2000. p. 45.

LOPES, M. C. **Propagação vegetativa de mangueira (*Mangifera indica* L.) por estaquia**. 59 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

MOREIRA, F. M.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B.; ZAIDAN, L. B. P. Anatomical aspects of IBA-treated microcuttings of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. **Brazilian Archives of Biology and Tecnology**, Curitiba, v. 43, n. 2, p. 221-227, 2000.

NIENOW, A. A.; CHURA, G.; PETRY, C.; COSTA, C. Enraizamento de estacas de quaresmeira em duas épocas e concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 16, n. 1-4, p. 139-142, 2010.

NORBERTO, P. M.; CHALFUN, N. N. J.; PASQUAL, M.; VEIGA, R. D.; PEREIRA, G. E.; MOTA, J. H. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 533-541, 2001.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83 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 porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

ROBERTO, S. R.; KANAI, H. T.; YANO, M. Y. Enraizamento e brotação de estacas lenhosas de seis porta-enxertos de videira submetidas à estratificação. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 79-84, 2004.

SANTOS, C. M. G.; CERQUEIRA, R. C.; FERNANDES, L. M. S.; DOURADO, F. W. N.; ONO, E. O. Substratos e regulador vegetal no enraizamento de estacas de pitaya. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 625-629, 2010.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2 ed. Iowa: State College Press, 1951. 228 p.

SCHEIDT, C.; SANTOS, A. R. S.; FERREIRA, J.; MALHEIROS, A.; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Evidence for the involvement of glutamatergic receptors in the antinociception caused in mice by the sesquiterpene drimaniol. **Neuropharmacology**, New York, v. 43, n. 3, p. 340-347, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1986. 147 p.

SMITH-RAMÍREZ, C.; ARMESTO, J. J. Flowering and fruiting patterns in the temperate rainforest of Chiloé, Chile - ecologies and climatic constraints. **Journal of Ecology**, Chile, v. 82, n. 2, p. 353-65, 1994.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: BR Petrobras, 1997. 19 p.

VATTIMO, I. Notas para o estudo da distribuição geográfica de *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae). **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 23/24, n. 35/36, p. 235-240, 1961.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R. Enraizamento de espécies nativas de interesse ecológico - Fase II (1999 a 2001). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 53 E REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 25, Recife, **Anais...** Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2002. p. 45.

5. CAPITULO III: ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES HERBÁCEAS E SEMILENHOSAS DE *Drimys brasiliensis* Miers COLETADAS NO VERÃO

RESUMO

Drimys brasiliensis Miers (Winteraceae) é uma espécie de uso medicinal nativa na Floresta Ombrófila Mista, pertencente à família Winteraceae e popularmente conhecida por cataia. De importância fitoquímica, é matéria prima para a fabricação de um produto bioquímico chamado “drimanial”, que possui ação efetiva no combate à enxaqueca. Popularmente, é utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo. Por apresentar dormência em suas sementes, devido à imaturidade embrionária, a produção de mudas de cataia em larga escala constitui uma problemática de propagação da espécie. Assim, a estaquia foi utilizada como uma técnica visando à diminuição do tempo de obtenção das mudas e possibilitando a uniformidade de enraizamento. Estacas caulinares de brotações do ano (semilenhosas) e epicórmicas oriundas de poda prévia das plantas matrizes de *Drimys brasiliensis* com aproximadamente cinco anos de idade, foram coletadas no verão/2013, confeccionadas com 10-12 cm de comprimento, corte em bisel na base e reto no ápice, mantendo-as com duas folhas com sua área reduzida a metade. Após a desinfestação, as bases das estacas foram submetidas aos seguintes tratamentos com ácido indol butírico (IBA) em solução hidroalcoólica 50%, por 10 segundos de imersão: 100% água, 0 mg L⁻¹IBA, 500 mg L⁻¹IBA, 1500 mg L⁻¹IBA, 3000 mg L⁻¹IBA, 4500 mg L⁻¹IBA e 6000 mg L⁻¹IBA. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 2x7 (2 tipos de estaca x 7 concentrações de IBA), com quatro repetições contendo 20 estacas por unidade experimental. As estacas foram acondicionadas em tubetes contendo vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada (1:1), mantidas em casa de vegetação. Após 120 dias, avaliou-se a porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento das três maiores raízes por estaca, porcentagem de estacas com calos, vivas, mortas, com novas brotações e que mantiveram suas folhas originais, além do estudo anatômico da base das mesmas. Foi possível concluir que em épocas quentes como o verão, o uso de estacas herbáceas é indicado para o sucesso do enraizamento (32,67%). Não foram observadas barreiras anatômicas sobre a emissão de novas raízes.

Palavras-chave: Winteraceae; cataia; ácido indol butírico; estaquia, anatomia.

ROOTING OF SOFTWOOD AND SEMIHARDWOOD CUTTINGS OF *Drymis brasiliensis* Miers COLLECTED IN SUMMER

ABSTRACT

Drymis brasiliensis Miers (Winteraceae) is a medical species native to the Mixed Ombrophilous Forest, belonging to the Winteraceae family and commonly known as cataia or pepper bark. It presents phytochemical interest, being used as raw material for the production of a biochemical product known as “drimanol”, with effective properties against migraine. It is used in popular medicine as a stimulant, antispasmodic, aromatic, relief for diarrhea, antipyretic, against uterus hemorrhage and some affections of the digestive tract. Since it presents seed dormancy, due to embryonal immaturity, the large scale production of pepper bark seedlings is an issue concerning species propagation. Thus, cuttings propagation was used as a possible technique to solve the problem, reduce the time needed for seedlings production and to make the rooting uniformity possible. Stem cuttings, obtained from current-year shoots (semihardwood) and epicormic shoots coming from previous pruning of *Drymis brasiliensis* stock plants approximately five years old, were collected in summer/2013, prepared with a length of 10-12 cm, a bevel cut on the base and a straight cut on top, keeping two leaves with halved surface. After disinfestation, bases of cuttings were submitted to the following treatments with indolebutyric acid (IBA) in 50% hydroalcoholic solution, all through 10 seconds immersion: 100% water, 0 mg L⁻¹ IBA, 500 mg L⁻¹ IBA, 1500 mg L⁻¹ IBA, 3000 mg L⁻¹ IBA, 4500 mg L⁻¹ IBA and 6000 mg L⁻¹ IBA. The experiment had a completely randomized design, with factorial arrangement 3x7 (3 types of cuttings x 7 IBA concentrations), with four repetitions of 10 cuttings per experimental unit. Cuttings were accommodated in plastic pots containing fine vermiculite and carbonized rice shell (1:1) and maintained in a greenhouse. After 120 days, evaluation of the following variables was performed: percentage of rooted cuttings, number of roots and length of the three longest roots per cutting, percentage of cuttings with callus, number of alive and dead, cuttings with new shoots and number of cuttings that maintained the original leaves. Anatomical analysis of the bases was also performed. It was reached the conclusion that in the hot seasons, like summer, the use of softwood cuttings is indicated for rooting success (32.67%). There were no observed anatomical barriers to new roots emission.

Keywords: Winteraceae; pepper bark; indolebutyric acid; cutting, anatomy.

5.1. INTRODUÇÃO

Drimys brasiliensis Miers é uma espécie de uso medicinal nativa na Floresta Ombrófila Mista, pertencente ao Bioma Mata Atlântica, conhecida popularmente como cataia ou casca d'anta (MARIOT, 2008).

O gênero *Drimys* apresenta cerca de seis espécies, distribuídas desde o Estreito de Magalhães até o sul do México (SMITH, 1943; TRINTA; SANTOS, 1997). Sendo que *Drimys brasiliensis* ocorre no Brasil nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (TRINTA; SANTOS, 1997).

A espécie apresenta importância fitoquímica, sendo matéria prima para a fabricação de um produto bioquímico chamado “drimanial”, que possui ação efetiva no combate à enxaqueca causada pelo glutamato monosódico, além de apresentar poucos efeitos colaterais (SIMÕES et al., 1986).

Popularmente, é utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo (SIMÕES et al., 1986).

Segundo Filgueiras e Pereira (1990), *Drimys brasiliensis* consta na lista de espécies raras ou ameaçadas de extinção do Distrito Federal, e devido ao interesse em empregá-la em plantios florestais, vem aumentando a sua possibilidade de uso. No entanto, suas sementes apresentam dormência, o que constitui um problema para análise de sementes e produção de mudas. Essa dormência é devida à imaturidade embrionária, pois seus embriões são rudimentares e com isso necessitam de um período adicional para completar seu desenvolvimento antes de se tornarem aptos a germinar (ABREU et al., 2005).

Devido à dificuldade de produção de mudas via sementes, a estaquia é uma técnica utilizada para a produção de mudas em larga escala por apresentar maior simplicidade, rapidez e baixo custo, além de aumentar a precocidade, a uniformidade de enraizamento e reduzir o período juvenil (SILVA, 1984; SANTOS et al., 2010; HARTMANN et al., 2011).

O processo de enraizamento pode ser otimizado pela utilização de reguladores vegetais, do grupo das auxinas, embora não sejam as únicas

substâncias envolvidas no processo (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; BIASI, 2002).

Os reguladores vegetais, principalmente o ácido indol butírico, além de estimularem a iniciação radicial, promovem o aumento da porcentagem de estacas enraizadas e conseqüentemente diminuem o seu tempo de permanência no leito de enraizamento (ALVARENGA; CARVALHO, 1983).

Dentre os reguladores vegetais utilizados, as auxinas são as que apresentam maior efeito positivo na formação de raízes adventícias, pois aceleram e uniformizam a formação de raízes e o teor a ser aplicado depende da espécie e da concentração de hormônios vegetais existentes nos tecidos (NICOLOSO et al., 1999; NORBERTO et al., 2001).

Além disso, as estacas coletadas no período de crescimento vegetativo intenso apresentam-se mais herbáceas e com isso respondem melhor ao enraizamento do que estacas mais lignificadas (NORBERTO et al., 2001).

O conhecimento da estrutura interna do caule na estaquia é de suma importância por detectar possíveis barreiras anatômicas que podem dificultar a emissão de raízes (ONO; RODRIGUES, 1996).

O sucesso do enraizamento também está relacionado à estrutura interna do caule, pois algumas espécies utilizadas na estaquia possuem um anel de fibras composto por células esclerenquimáticas, de parede bastante lignificada, que sustentam a planta. A grande quantidade de fibras e esclereídes estão relacionadas com o baixo potencial de enraizamento (BEAKBANE, 1961; HARTMANN et al., 2011).

Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar as respostas de enraizamento de estacas de *Drimys brasiliensis*, por meio da coleta de material oriundo de brotação do ano (estacas semilenhosas) e brotações epicórmicas oriundas de poda prévia das plantas matrizes (estacas herbáceas), na estação do verão, com o uso de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA), descrevendo a anatomia das estacas utilizadas.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Estaquia

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Propagação de Espécies Florestais da Embrapa Florestas, localizada em Colombo (PR).

O material vegetativo de *Drimys brasiliensis* Miers, depositado no herbário da Embrapa Florestas sob o número HFC n° 7963, foi coletado a partir de plantas matrizes de aproximadamente cinco anos de idade, com média de 2,86 m de altura (Figura 5.1 A), localizadas no bosque da Embrapa Florestas, em Colombo (PR), sob as coordenadas 25°19'16" de latitude Sul e 49°09'31" de longitude Oeste. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb, isto é, clima caracterizado como temperado úmido com temperatura média do mês mais quente acima de 10 °C, com verões suaves e inverno com geadas frequentes e tendência de concentração de chuvas nos meses de verão, contundo sem estação seca definida.

Ramos de *Drimys brasiliensis* foram coletados no dia 09 de janeiro de 2013, correspondendo à estação do verão, oriundos de brotação do ano, classificadas como estacas semilenhosas (Figura 5.1 A) e brotações epicórmicas, classificadas como estacas herbáceas, de 16 plantas matrizes. As brotações epicórmicas (Figura 5.1 B) foram obtidas após as plantas matrizes serem podadas em setembro de 2012. Assim, foram confeccionadas estacas caulinares semilenhosas (Figura 5.1 E) e herbáceas (Figura 5.1 F) com aproximadamente 10-12 cm de comprimento, com corte em bisel na base e reto no ápice mantendo duas folhas na porção apical com sua porção reduzida a metade. Durante o processo de confecção, as estacas foram mantidas em balde com água a fim de evitar a desidratação do material.

Posteriormente, as estacas foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 0,5% durante 10 minutos, seguido de lavagem em água corrente por 5 minutos. As estacas foram então imersas em uma solução com fungicida Derosal® 500 SC 0,1% por 5 minutos.

Logo após, as bases das estacas foram tratadas com o regulador vegetal ácido indol butírico (IBA) (Figura 5.1 C), em solução hidroalcoólica 50%, por 10

segundos de imersão, conforme os seguintes tratamentos: 100% água, 0 mg L⁻¹IBA, 500 mg L⁻¹IBA, 1500 mg L⁻¹IBA, 3000 mg L⁻¹IBA, 4500 mg L⁻¹IBA e 6000 mg L⁻¹IBA.

As estacas dos tratamentos testemunha e 0 mg L⁻¹ IBA foram imersas em solução de água destilada (100%) e solução hidroalcoólica 50% (50% água e 50% álcool), respectivamente, sem adição de regulador vegetal. Nos demais tratamentos, o ácido indol butírico P.A. utilizado foi proveniente do Laboratório Sigma.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com capacidade de 53 cm³, preenchidos com vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada (1:1), sendo as estacas plantadas a cerca de 1/3 de profundidade da base das mesmas (Figura 5.1 D), mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de 24 °C ±2 °C e 80% de umidade relativa do ar), pertencente a Embrapa Florestas, em Colombo (PR).

O experimento foi implantado segundo um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 2x7 (2 tipos de estacas x 7 concentrações de IBA), com quatro repetições contendo 20 estacas por unidade experimental, totalizando 560 estacas.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Após o período de 120 dias da instalação do experimento, foram avaliadas as seguintes variáveis:

- I. Porcentagem de estacas enraizadas (estacas vivas que emitiram raízes de pelo menos 1 mm de comprimento);
- II. Número de raízes por estaca;
- III. Comprimento das três maiores raízes por estaca (cm);
- IV. Porcentagem de estacas com calos (estacas vivas, sem raízes, com formação de massa celular indiferenciada na base);
- V. Porcentagem de estacas vivas (estacas sem a presença de calos e sem raízes);
- VI. Porcentagem de estacas mortas (estacas com tecidos necrosados);
- VII. Porcentagem de estacas brotadas (estacas vivas, com ou sem raízes e calos, que apresentavam brotações de novas folhas);

- VIII. Porcentagem de estacas que mantiveram suas folhas (estacas vivas, com ou sem raízes e calos, que mantiveram as folhas originais no momento da avaliação).



Figura 5.1 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Planta matriz. **B.** Brotações epicórmicas. **C.** Imersão das estacas em IBA. **D.** Experimento instalado. **E.** Estaca semilenhosa. **F.** Estaca herbácea.

5.2.2. Análises Anatômicas

Para análise anatômica, ao final dos 120 dias do experimento, no momento da avaliação, foram coletadas amostras da base de 10 estacas semilenhosas e herbáceas de *Drimys brasiliensis*, no verão. Essas com aproximadamente 2,0 cm de comprimento foram fixadas em FAA 70 (JOHANSEN, 1940), por 24 horas e conservadas em álcool 70%. Fragmentos de 1,0 cm foram infiltrados em PEG (polietilenoglicol 1500). Estes blocos foram fixados em tutores de madeira e seccionados em micrótomo de rotação (Olympus CUT 4055) com 20 µm de espessura e submergidos em água destilada para dissolução do PEG. Os cortes foram selecionados e submetidos aos testes histoquímicos, com lugol (BERLYN; MIKSCHE, 1976), para identificação do amido, cloreto férrico (JOHANSEN, 1940), para a identificação de compostos fenólicos e Sudam III (SASS, 1951) para a identificação de lipídeos. O restante dos cortes foi corado com safrablau para identificação dos tecidos (BUKATSCH, 1972).

As lâminas foram montadas de forma semipermanentes com gelatina glicerizada e vedadas com esmalte incolor. Para a documentação dos resultados foram obtidas fotomicrografias em fotomicroscópio Zeiss com câmera SC 30 Olympus, realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, UFPR, Curitiba (PR).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Estaquia

Para as variáveis porcentagem de enraizamento, porcentagem de estacas com calos, vivas, mortas, com brotação e que mantiveram as folhas originais na estaca não houve interação entre os fatores analisados, demonstrando que estes são independentes. Houve interação para as variáveis número de raízes e comprimento médio de raízes por estaca, mostrando que os fatores não são independentes. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para o número de raízes e comprimento médio de raízes por estaca para as diferentes concentrações de IBA (Tabela 5.1).

No experimento realizado, comparando-se o tipo de estaca, somente as variáveis estacas enraizadas, estacas vivas e estacas que mantiveram folhas apresentaram diferença significativa entre si. As estacas herbáceas apresentaram melhor enraizamento (32,67%) quando comparadas com as estacas semilenhosas (14,82%) (Tabela 5.2) (Figura 5.2).

Concordando com os resultados obtidos no presente trabalho, Weiser et al. (2012), estudando a propagação vegetativa de *Drimys brasiliensis* no inverno, obtiveram maior porcentagem de enraizamento para as estacas herbáceas quando comparados com as estacas semilenhosas, com 46,75% e 34,44%, respectivamente.

Considerando a consistência de estaca, de uma maneira geral, as herbáceas apresentam maior capacidade de enraizamento em relação às lenhosas, devido ao maior grau de lignificação destas (FACHINELLO et al., 2005). No entanto, Duarte et al. (2006), estudando o enraizamento de diferentes tipos de estacas de ixora (*Ixora coccinea*), não obtiveram diferença significativa para a porcentagem de enraizamento de estacas herbáceas e semilenhosas, discordando dos resultados do presente trabalho.

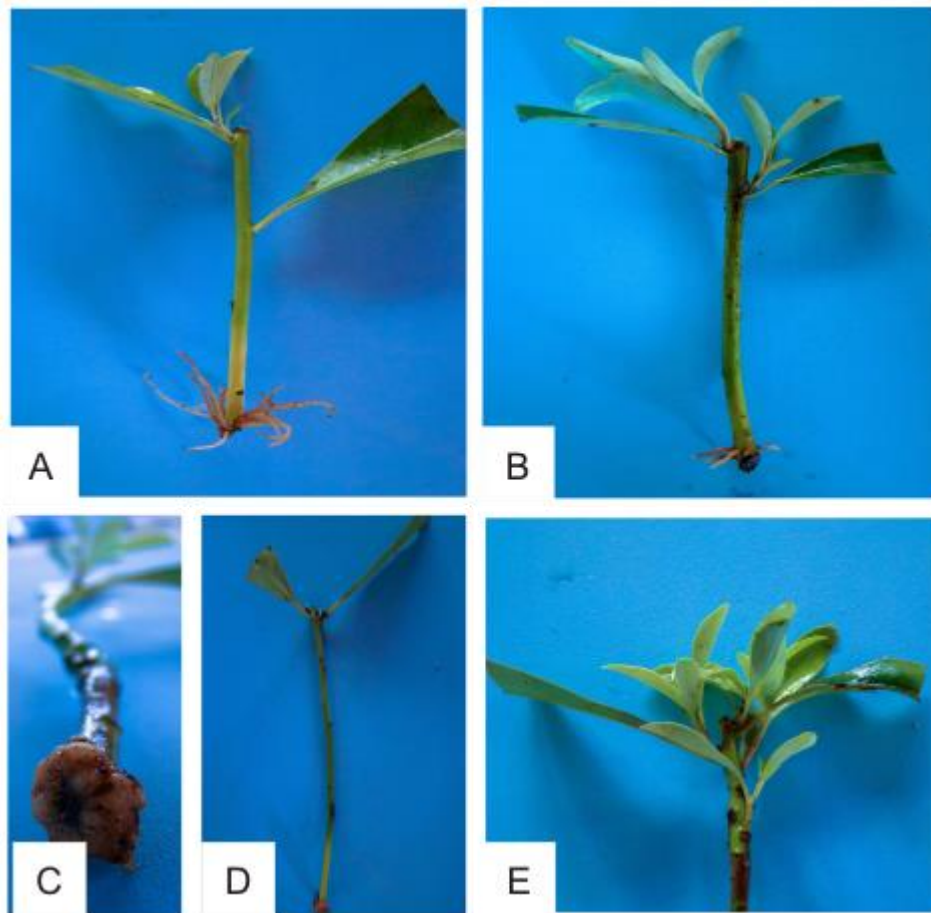


Figura 5.2 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Estaca herbácea e enraizada. **B.** Estaca semilenhosa e enraizada. **C.** Calos. **D.** Estaca com calos e enraizada. **E.** Detalhe de brotação em estaca.

Tabela 5.1 - Resultados da análise de variância para as variáveis de estacas semilenhosas e herbáceas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número médio de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), no verão, tratadas com ácido indol butírico (IBA), Curitiba (PR), 2013.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio							
		EE	NR	CMR	EC	EV	EM	EB	EMF
		%		cm	%	%	%	%	%
Tipos de Estacas	6	4464,28 ^{**}	291,15 ^{**}	0,08 ^{**}	279,01 ^{ns}	279,01 [*]	1116,07 ^{ns}	750,44 ^{ns}	1301,78 [*]
Concentração de IBA	1	220,83 ^{ns}	2,15 ^{**}	0,01 ^{**}	181,69 ^{ns}	79,16 ^{ns}	205,65 ^{ns}	230,95 ^{ns}	276,93 ^{ns}
Tipos de Estacas x Concentração de IBA	6	153,86 ^{ns}	2,34 ^{**}	0,01 ^{**}	120,68 ^{ns}	63,39 ^{ns}	274,40 ^{ns}	170,23 ^{ns}	156,99 ^{ns}
Tratamento	13	516,34 ^{**}	24,47 ^{**}	0,02 ^{**}	161,02 ^{ns}	87,25 ^{ns}	307,41 ^{ns}	242,89 ^{ns}	300,41 ^{ns}
Erro	42	171,42	0,29	0,00	116,22	64,13	284,22	301,33	270,23
Total	55								
Coeficiente de Variação (%)		55,13	18,08	54,23	57,77	61,02	37,92	35,03	35,27
Teste de Bartlett (X²)		18,53 ^{ns}	21,63 ^{ns}	13,88 ^{ns}	18,96 ^{ns}	10,43 ^{ns}	12,48 ^{ns}	10,52 ^{ns}	13,35 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

Tabela 5.2 - Comparação de médias das variáveis de estacas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE) estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), no verão, entre os tipos de estacas, Curitiba (PR), 2013.

Tipo de estaca	EE	EC	EV	EM	EB	EMF
	%	%	%	%	%	%
Semilenhosa	14,82 b	20,89 a	15,35 a	48,92 a	45,89 a	41,78 b
Herbácea	32,67 a	16,42 a	10,89 b	40,00 a	53,21 a	51,42 a
Coefficiente de Variação (%)	55,13	57,77	61,02	37,92	35,03	35,27

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

A presença de calos na base das estacas é resultado da cicatrização das lesões que os tecidos do floema e xilema sofreram com o corte da base desta, constituindo num aglomerado de células desdiferenciadas em distintas etapas de lignificação (DALL'ORTO, 2011). A presença de calos não foi influenciada pelo tipo de estaca utilizada (Tabela 5.2), no entanto, para *Drimys brasiliensis*, o surgimento desse tecido com células indiferenciadas é uma condição para a posterior formação de raízes adventícias.

Para a variável sobrevivência, as estacas semilenhosas apresentaram melhores porcentagens quando comparada com as estacas herbáceas, 15,35% e 10,89%, respectivamente (Tabela 5.2). A alta porcentagem de estacas vivas está atrelada à baixa porcentagem de estacas semilenhosas enraizadas.

Paula et al. (2007) avaliaram o enraizamento de estacas herbáceas e lenhosas de umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) e constataram que as estacas lenhosas apresentaram os melhores resultados em relação às estacas herbáceas para a sobrevivência, comportamento este semelhante ao encontrado no presente estudo. Isto se deve ao fato de que a sobrevivência das estacas pode estar limitada pela sua reserva inicial, a qual varia entre o tipo da estaca e seu grau de lignificação (DRUEGE et al., 2004).

A presença de estacas vivas pode 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).

A estaquia herbácea e semilenhosa realizada no verão não é indicada para a produção de mudas de *Drimys brasiliensis*, visto que nessa estação apresentou

uma alta porcentagem mortalidade, com 40,00% e 48,92%, respectivamente, somada a uma baixa porcentagem de enraizamento. Provavelmente, a alta mortalidade das estacas e o baixo enraizamento estão relacionados com as altas temperaturas nesta época do ano (Tabela 5.2).

As maiores porcentagens de estacas que mantiveram suas folhas iniciais foram observadas em estacas herbáceas (51,42%), diferindo estatisticamente das estacas semilenhosas (41,78%) (Tabela 5.2).

Lima et al. (2007), estudando o enraizamento de estacas semilenhosas de maracujazeiro amarelo nativo (*Passiflora actinia*) constataram que a presença de uma maior área foliar favorece não somente o enraizamento como também o melhor desenvolvimento da raiz formada. Isto pode ser observado no presente trabalho, pois estacas herbáceas com maior porcentagem de estacas que mantiveram suas folhas originais durante todo o processo de enraizamento, foram as que apresentaram maior porcentagem de estacas enraizadas e número de raízes por estacas.

Quando se comparam as diferentes concentrações de IBA, houve diferença significativa para as variáveis número de raiz e comprimento médio de raízes por estaca e para as demais variáveis estudadas não houve diferença significativa (Tabela 5.4 e Tabela 5.5).

Tabela 5.3 - Comparação de médias das variáveis de estacas semilenhosas e herbáceas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), estacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), no verão, entre os tratamentos sob diferentes concentrações de IBA, Curitiba (PR), 2013.

Tratamentos	EE	EC	EV	EM	EB	EMF
	%	%	%	%	%	%
água	16,25 a	16,87 a	16,25 a	50,62 a	41,87 a	40,62 a
água + álcool	25,62 a	12,50 a	10,62 a	51,25 a	43,12 a	40,62 a
500 mg L ⁻¹ IBA	20,62 a	16,87 a	16,87 a	45,62 a	47,50 a	46,87 a
1500 mg L ⁻¹ IBA	33,12 a	15,62 a	10,62 a	40,62 a	55,00 a	51,87 a
3000 mg L ⁻¹ IBA	25,00 a	22,50 a	15,00 a	37,50 a	53,12 a	55,62 a
4500 mg L ⁻¹ IBA	24,37 a	19,37 a	13,75 a	42,50 a	53,75 a	48,75 a
6000 mg L ⁻¹ IBA	21,25 a	26,87 a	8,75 a	43,12 a	52,50 a	41,87 a
Coefficiente de Variação (%)	55,13	57,77	61,02	37,92	35,03	35,27

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

A formação de um sistema radicial desenvolvido, com numerosas raízes por estaca, é um fator importante visto que favorece a absorção e fixação das mudas quando transplantadas para o campo (REIS et al., 2000).

Estacas herbáceas quando comparadas com as semilenhosas, apresentaram maior número de raízes por estaca para todos os tratamentos. Isto mostra que estacas com melhor enraizamento apresentaram também um maior número de raízes (Tabela 5.4). A formação de um sistema radicial desenvolvido, com numerosas raízes por estaca é um fator importante visto que favorece a absorção e fixação das mudas quando transplantadas para o campo (REIS et al., 2000).

Segundo Fanti (2008), um sistema radicial com maior número de raízes é mais eficiente do que um sistema radicial com raízes mais longas, pois o número elevado de raízes por estaca ajuda sua fixação no campo, e raízes muito compridas

podem atrapalhar, uma vez que elas podem se emaranhar no momento do plantio, comprometendo a absorção de água e sais minerais.

Para as estacas semilenhosas, não houve diferença significativa nas diferentes concentrações de IBA utilizada para o número de raízes por estaca (Tabela 5.4). No entanto para as estacas herbáceas, o número de raízes foi mais desenvolvido quando do uso de uma solução hidroalcoólica (50% água e 50% álcool), 1500 mg L⁻¹ de IBA e 6000 mg L⁻¹ de IBA, 6,42, 6,33 e 6,33, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si.

Tabela 5.4 - Comparação de médias de interação da variável: número médio das três maiores raízes por estaca de *Drimys brasiliensis* Miers entre os fatores tipo de estaca (semilenhosa e herbácea) e concentrações de IBA, no verão, Curitiba (PR), 2013.

Tratamentos	Semilenhosa			Herbácea		
água	0,61	a	B	4,92	b	A
água + álcool	0,56	a	B	6,42	a	A
500 mg L ⁻¹ IBA	0,56	a	B	4,05	b	A
1500 mg L ⁻¹ IBA	0,96	a	B	6,33	a	A
3000 mg L ⁻¹ IBA	0,76	a	B	4,73	b	A
4500 mg L ⁻¹ IBA	1,03	a	B	4,24	b	A
6000 mg L ⁻¹ IBA	0,62	a	B	6,33	a	A
Coeficiente de Variação (%)				18,08		

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) e de mesma letra na linha (maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Para a variável comprimento médio das três maiores raízes por estaca, não houve diferença significativa para o tratamento com o uso de 100% água (testemunha), 500 mg L⁻¹ de IBA, 3000 mg L⁻¹ de IBA, 4500 mg L⁻¹ de IBA e 6000 mg L⁻¹ de IBA ao comparar os diferentes tipos de estacas (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 - Comparação de médias de interação da variável: comprimento médio das três maiores raízes por estaca (cm) de *Drimys brasiliensis* Miers entre os fatores tipo de estaca (semilenhosa e herbácea) e concentrações de IBA, no verão, Curitiba (PR), 2013.

Tratamentos	Semilenhosa			Herbácea		
água	0,04	a	A	0,05	c	A
água + álcool	0,02	a	B	0,17	b	A
500 mg L ⁻¹ IBA	0,03	a	A	0,07	b c	A
1500 mg L ⁻¹ IBA	0,07	a	B	0,31	a	A
3000 mg L ⁻¹ IBA	0,08	a	A	0,11	b c	A
4500 mg L ⁻¹ IBA	0,07	a	A	0,08	b c	A
6000 mg L ⁻¹ IBA	0,05	a	A	0,10	b c	A
Coeficiente de Variação (%)			54,23			

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Estacas herbáceas quando comparadas com as semilenhosas, apresentaram maior comprimento médio de raízes por estaca quando se utilizou como tratamento uma solução hidroalcolica (50% água e 50% álcool) e 1500 mg L⁻¹ IBA, com 0,17 cm e 0,31 cm, respectivamente (Tabela 5.5).

Para estacas semilenhosas, não houve diferença estatística nas diferentes concentrações de IBA utilizadas (Tabela 5.5). Para estacas herbáceas, a concentração de 1500 mg L⁻¹ IBA foi a que apresentou maior comprimento médio de raízes por estaca quando comparada com os demais tratamentos, com 0,31 cm.

Assim como no presente trabalho, Mayer et al. (2001) e Ribas et al. (2007) também verificaram que o uso do IBA proporciona um aumento no comprimento médio de raízes por estaca.

Concordando com os resultados do presente trabalho, Mindêllo Neto et al. (2004), estudaram o efeito do ácido indol butírico no enraizamento de estacas herbáceas de dois porta enxertos de pessegueiro (*Prunus persica*) e concluíram que o uso do IBA influencia no comprimento médio de raízes por estaca.

Quando se comparam as diferentes concentrações de IBA estudadas, percebe-se que não houve diferença significativa para a porcentagem de estacas mortas (Tabela 5.3). Concordado com tais resultados, Bitencourt (2009), também não encontrou diferença estatística na mortalidade de estacas de erva-mate (*Ilex*

paraguariensis) com 12 anos de idade, na estação do verão, quando submetidas às diferentes concentrações de IBA.

Para a porcentagem de estacas brotadas, não houve diferença significativa nas diferentes concentrações de IBA testadas. Entretanto, percebe-se que ocorre numericamente um aumento da porcentagem de brotação com o aumento da concentração de IBA até um valor máximo de 1500 mg L⁻¹IBA (Tabela 5.3).

Corroborando com os resultados apresentados, Nienow et al. (2010), estudando o enraizamento de estacas de quaresmeira (*Tibouchina sellowiana*) também não encontraram diferença significativa na porcentagem de estacas brotadas nas diferentes concentrações de IBA utilizadas. No entanto, obtiveram uma redução na brotação quando do uso do ácido indol butírico em relação à testemunha.

Para a variável porcentagem de estacas que mantiveram as suas folhas originais, não houve diferença significativa nas diferentes concentrações de IBA (Tabela 5.3).

Principalmente em espécies de difícil enraizamento, a presença de folhas é estimuladora para a indução radicial. As auxinas não são os únicos fatores responsáveis pela rizogênese, necessitando de outros elementos que geralmente são produzidos pelas gemas e folhas ativas. Por isso as estacas devem ser confeccionadas com um par de meia-folhas na região apical que durante todo o processo de enraizamento serão suficientes para translocar fotoassimilados e evitar a transpiração excessiva (PAGEL, 2004; HARTMANN et al., 2011).

5.3.2. Análises anatômicas

Analisando as secções da base de estacas semilenhosas e herbáceas de *Drimys brasiliensis* coletadas no verão de 2013, não houve diferença anatômica entre elas.

O caule encontrava-se em crescimento secundário. A epiderme é uniestratificada com cutícula espessa. A região cortical é composta externamente por cerca de duas camadas de colênquima e internamente por 10 a 12 camadas de

parênquima. Na região mais interna do córtex ocorre bainha de esclerênquima em toda a extensão do córtex adjacente ao floema (Figura 5.3 D).

O floema secundário é contínuo e o xilema apresenta raios estreitos e frequentes alternados com fileiras radiais de elementos traqueais. A faixa cambial é estreita, com duas outras camadas de células indiferenciadas (Figura 5.3 A). A medula é parenquimática com esclereides isoladas ou agrupadas. Estes possuem parede moderadamente espessa, conferindo rigidez ao tecido (ESAU, 1898).

Segundo White e Lovell (1984), Ono e Rodrigues (1996) e Hartmann et al. (2011), o desenvolvimento deste anel de esclerênquima possivelmente constitui uma barreira anatômica à formação de raízes adventícias originadas do floema secundário, estando associado ao grau de maturidade das estacas, ocorrendo frequentemente em plantas de difícil enraizamento. No entanto para *Drimys brasiliensis* não foi observada esta barreira anatômica.

Por meio do teste histoquímico com lugol não foram evidenciadas a presença de grãos de amido, portanto este não é um fator que justifique a capacidade de enraizamento (Figura 5.3 A).

O teste com cloreto férrico mostrou a presença de compostos fenólicos nas secções transversais de estacas caulinares de *Drimys brasiliensis* (Figura 5.3 C). Seriam necessários estudos detalhados para identificar a composição química destes compostos, a fim de esclarecer se estes podem ou não influenciar a resposta de enraizamento de *Drimys brasiliensis*, pois, segundo Ono e Rodrigues (1996), os compostos fenólicos podem tanto estimular (monofenóis) como inibir (polifenóis) o enraizamento de estacas. Foi possível observar a presença de lipídeos nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema, identificados pelo teste de Sudam III (Figura 5.3 B).

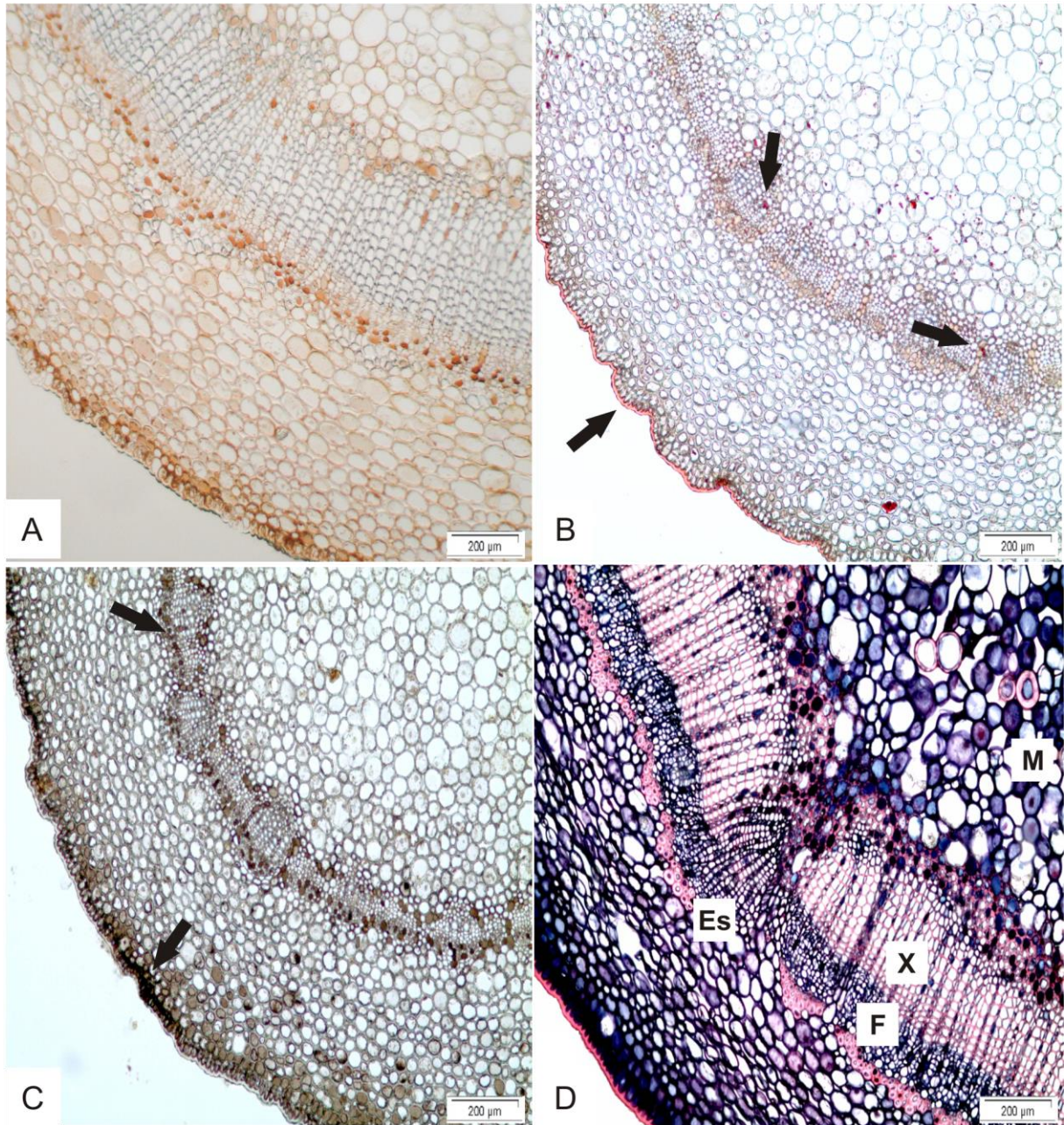


Figura 5.3 - Secções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas e herbáceas de *Drimys brasiliensis* coletadas no verão/2013: **A.** Não há presença de amido. **B.** Presença de lipídeos. **C.** Presença de compostos fenólicos. **D.** Vista geral do corte: floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereídes (Es).

5.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, pode-se concluir que, o melhor enraizamento foi obtido com o uso de estacas caulinares herbáceas de *Drimys brasiliensis* sem a necessidade de aplicação do ácido indol butírico. No entanto, não é indicado o uso de estacas herbáceas e semilenhosas coletadas no verão devido à alta mortalidade correlacionada com a baixa porcentagem de estacas enraizadas. O estudo anatômico da espécie evidenciou a presença de lipídios nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema. Houve presença de compostos fenólicos e ausência de grãos de amido nas secções transversais das estacas, não sendo observadas barreiras anatômicas ao enraizamento das estacas, tanto semilenhosas como herbáceas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, D. C. A.; KUNIYOSHI, Y. S.; SOUZA MEDEIROS, A. C.; NOGUEIRA, A. C. Caracterização morfológica de frutos e sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers - Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 67-74, 2005.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.
- BEAKBANE, A. B. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. **Nature**, London, v. 192, n. 4806, p. 954-955, 1961.
- BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University, 1976. 276 p.
- BIASI, L. A. Reguladores de crescimento vegetal. In: WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. **Fisiologia Vegetal**: produção e pós-colheita. Curitiba: Editora Champagnat, 2002. 424 p.
- BITENCOURT, J. **Otimização do enraizamento de estaca de plantas adultas de erva-mate**. 162 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 14, n. 3, p. 255, 1972.
- DALL'ORTO, L. T. C. **Auxinas e tipos de estacas no enraizamento de *Camellia sinensis***. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Setor de Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", São Paulo, 2011.
- DRUEGE, U.; ZERCHE, S.; KADNER, R. Nitrogen and storage-affected carbohydrate partitioning in high-light-adapted *Pelargonium* cuttings in relation to survival and

adventitious root formation under low light. **Annals of Botany**, v. 94, n. 6, p. 831-842, 2004.

DUARTE, E. F.; RESENDE JUNIOR, P. M.; CARNEIRO, I. F. Enraizamento de estacas de *Ixora* (*Ixora coccinea* L.) com o uso AIB e solução mineral. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, 3., 2006, Goiania. **Anais eletrônicos...** Goiania: UFG, 2006, n. p.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução Berta Lange de Morretes. 3. ed., São Paulo: Edgardv Blucher, 1898. 293 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. Propagação de plantas frutíferas. **Embrapa Informações Tecnológicas**, Brasília, 2005. 221 p.

FANTI, F. P. **Aplicação de Extratos de Folhas e Tubérculos de *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) e de Auxinas Sintéticas na Estaquia Caulinar de *Duranta repens* L. (Verbenaceae)**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FILGUEIRAS, T. S.; PEREIRA, B. A. da S. Flora do Distrito Federal. In: PINTO, M. N. (Org). **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. Brasília: Editora da Universidade de Brasília, p. 331-388, 1990.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

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**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

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**, Maringá, v. 29, n. 5, p. 671-676, 2007. Suplemento.

MARIOT, A. **Fundamentos para o manejo de populações naturais de *Drimys brasiliensis* Miers - Winteraceae**. 129 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Setor de Concentração de Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MAYER, N. A.; PEREIRA, F. M.; NACHTIGAL, J. C. Propagação do umezeiro (*Prunus mume* Sieb & Zucc.) por estaquia herbácea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 673-676, 2001.

MINDÊLLO NETO, U. R.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; HIRANO, E. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de dois porta-enxertos de pessegueiro. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 4, p. 433-437, 2004.

NICOLOSO, F. T.; LAZZARI, M.; FORUTNATO, R. P. Propagação vegetativa de *Platanus acerifolia* Ait.:(l) Efeito de tipos fisiológicos das estacas e épocas de coleta no enraizamento de estacas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 479-485, 1999.

NIENOW, A. A.; CHURA, G.; PETRY, C.; COSTA, C. Enraizamento de estacas de quaresmeira em duas épocas e concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 16, n. 1-4, p. 139-142, 2010.

NORBERTO, P. M.; CHALFUN, N. N. J.; PASQUAL, M.; VEIGA, R. D.; PEREIRA, G. E.; MOTA, J. H. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 533-541, 2001.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83 p.

PAGEL, F. E. **Produção de mudas florestais por via assexuada**. Santa Rosa: ANORGS, 2004. 37 p. Caderno Didático.

PAULA, L. A.; BOLIANI, A. C.; CORRÊA, L. S.; CELOTO, M. I. B. Efeito do ácido indolbutírico e raizon no enraizamento de estacas herbáceas e lenhosas de umbuzeiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, n. 3, p. 411-414, 2007.

REIS, J. M. R.; CHALFUN, N. N. J.; LIMA, L. C. O.; LIMA, L. C. Efeito do estiolamento e do ácido indol butírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

RIBAS, C. P.; GOMES, F. G. D.; LEONOR, R.; BIASI, L. A.; MARÇALLO, F. A. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas das cultivares de pessegueiro dela nona e eldorado. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 439-442, 2007.

SANTOS, C. M. G.; CERQUEIRA, R. C.; FERNANDES, L. M. S.; DOURADO, F. W. N.; ONO, E. O. Substratos e regulador vegetal no enraizamento de estacas de pitaya. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 625-629, 2010.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2 ed. Iowa: State College Press, 1951. 228 p.

SILVA, I. C. **Propagação vegetativa de *Octea puberula* Benth & Hook e *Octea pretiosa* Nees pelo método de estaquia**. 109 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1984.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1986. 147 p.

SMITH, A. C. The American species of *Drimys*. **Journal of the Arnold Arboretum**, New York, v. 24, n. 1, p. 1-33, 1943.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: BR Petrobras, 1997. 19 p.

WEISER, A. H.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; ZEM, L. M. **Propagação vegetativa via estaquia de *Drimys brasiliensis* Miers. (Winteraceae)**. Trabalho apresentado

no 20° Evinci, Curitiba, 2012. Disponível em:
http://www.siepe.ufpr.br/cd_4_siepe/evinci/0238.html. Acesso em: 19/07/2013.

WHITE, J.; LOVELL, P. H. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. **Annals of Botany**, Londres, v. 54, n. 1, p. 7-20, 1984.

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

6. CAPITULO IV: ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS CAULINARES DE *Drimys brasiliensis* Miers NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

RESUMO

Drimys brasiliensis Miers é uma árvore nativa da Mata Atlântica, comumente conhecida por cataia. Popularmente, é utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo. A propagação vegetativa via sementes constitui num problema para a produção de mudas devido à imaturidade embrionária de suas sementes. A técnica da miniestaquia foi adotada visando o rejuvenescimento do material, o qual potencialmente responderia precocemente à indução radicial. Miniestacas provenientes de brotações de mudas transplantadas de *Drimys brasiliensis*, foram coletadas nas quatro estações do ano (inverno/2012, primavera/2012, verão/2013 e outono/2013), confeccionadas com 3-5 cm de comprimento, corte em bisel na base e reto no ápice, mantendo-as com duas folhas com sua área reduzida a metade. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado contendo 3 repetições e 20 estacas por unidade experimental. As miniestacas foram acondicionadas em tubetes contendo substrato comercial Agrofior®, mantidas em casa de vegetação. Após 120 dias, avaliou-se a porcentagem de miniestacas enraizadas, número de raízes por miniestaca, comprimento das três maiores raízes por miniestaca, porcentagem de miniestacas com calos, vivas, mortas, com novas brotações e que mantiveram suas folhas originais. Foram ainda coletadas amostras da base de 10 miniestacas com aproximadamente 2,0 cm de comprimento, as quais foram fixadas em FAA 70 e conservadas em álcool 70% até a confecção das lâminas para a realização da análise e descrição anatômica. Não houve diferença significativa para a porcentagem de enraizamento nas quatro estações do ano. As miniestacas coletadas no inverno/2012 apresentaram menor porcentagem de mortalidade (3,33%) quando comparadas com as miniestacas coletadas nas demais estações. A técnica de miniestaquia em *Drimys brasiliensis* nas quatro estações do ano não se mostrou viável para a produção de mudas, visto que houve um baixo enraizamento de 6,66% no inverno, 8,33% na primavera, 2,50% no verão e 1,66% no outono. Não foram observadas barreiras anatômicas sobre a emissão de novas raízes.

Palavras-chave: Propagação vegetativa; cataia; nativa; miniestaquia; anatomia.

ROOTING OF *Drymis brasiliensis* Miers STEM MINICUTTINGS IN FOUR SEASONS OF THE YEAR

ABSTRACT

Drymis brasiliensis Miers is a tree native to the Atlantic Forest, commonly known as cataia or pepper bark. It is traditionally used as a stimulant, antispasmodic, aromatic, relief for diarrhea, antipyretic, against uterus hemorrhage and some affections of the digestive tract. Vegetative propagation through seeds represents a problem for seedlings production due to the embryonal immaturity of its seeds. Minicuttings technique was adopted in order to obtain rejuvenation, which would potentially have a faster response to roots induction. Minicuttings coming from transplanted seedlings shoots of *Drymis brasiliensis* were collected in four seasons of the year (winter/2012, spring/2012, summer/2013 and autumn/2013), prepared with a length of 3-5 cm, a bevel cut in the base and a straight cut on top, keeping two leaves with halved surface. The experiment had a completely randomized design with 3 repetitions and 20 minicuttings per experimental unit. Minicuttings were accommodated in plastic pots with Agrofior® commercial substrate and maintained in a greenhouse. After 120 days, evaluation of the following variables was performed: percentage of rooted minicuttings, number of roots per minicutting, length of the three longest roots per minicutting, percentage of minicuttings with callus, alive, dead, with new shoots and number of cuttings that maintained the original leaves. Furthermore, samples from the base of 10 minicuttings, with a length of approximately 2.0 cm, were collected, fixed in FAA 70 and preserved in alcohol 70% until the preparation of slides for the anatomical analysis and description. There was no significant difference between rooting percentages in the four seasons of the year. Minicuttings collected in winter/2012 presented the lowest mortality percentage (3.33%), when compared with the ones collected in the other seasons. However, minicuttings technique did not prove to be viable for seedlings production, since there was a low rooting percentage equal to 6.66% in winter, 8.33% in spring, 2.5% in summer and 1.66% in autumn. There were no observed anatomical barriers to new roots formation.

Keywords: Vegetative propagation; cataia; pepper bark; minicutting; anatomy.

6.1. INTRODUÇÃO

Drimys brasiliensis Miers, conhecida como cataia, é uma árvore nativa da Mata Atlântica na qual sua casca tem sido utilizada medicinalmente a partir da exploração de plantas em populações naturais. No entanto, não existem estratégias de manejo de populações naturais sustentáveis (TRINTA; SANTOS, 1997). Segundo Mariot et al. (2010), *Drimys brasiliensis* é apenas um produto que pode ser obtido da floresta como fonte de renda, incentivando a conservação dos fragmentos florestais da Mata Atlântica.

Popularmente, *Drimys brasiliensis* é internamente utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo (SIMÕES et al., 1986).

A espécie apresenta diversas utilidades, fornecendo madeira amarelada com largas veias róseas, às vezes castanho-claras, sempre firmes e fáceis de trabalhar, prendendo bem os pregos, porém pouco resistente (obras internas), carpintaria e caixotaria, lenha e carvão. É indicada ainda para paisagismo de pequenos espaços (TRINTA; SANTOS, 1997; BACKES; IRGANG, 2002).

Martins e Astarita (2005) avaliaram a capacidade de multiplicação vegetativa da espécie utilizando explantes foliares, gemas axilares e apicais, buscando a regeneração de plantas clonais. No entanto, verificaram que a oxidação desses explantes era muito alta, mesmo com a adição de anti-oxidantes, concluindo com isso que este não era o melhor método de propagação para a espécie. Abreu et al. (2005), afirmam que a propagação via sementes constitui num problema para a produção de mudas da espécie, devido a imaturidade embrionária, pois seus embriões são rudimentares e necessitam de um período adicional para completar seu desenvolvimento antes de se tornarem aptos a germinar.

Devido à espécie apresentar problemas de germinação via sementes, a técnica de estaquia se torna uma opção para a produção de mudas, porém resultados com miniestaquia têm apontado vantagens em relação à estaquia convencional como um melhor desempenho de enraizamento, melhor sistema radicial, velocidade de emissão de raízes e redução das atividades operacionais (SANTOS et al., 2005).

A miniestaquia é um sistema fácil para se propagar espécies que possuam boa capacidade de enraizamento, sendo recomendada para espécies com baixa produtividade de sementes além de resultar em melhor vigor radicial e velocidade de enraizamento quando comparada à tradicional técnica de estaquia (SANTARELLI, 2000).

O conhecimento da estrutura interna do caule das estacas é necessário por detectar a dificuldade de enraizamento, pois em alguns casos ele ocorre pela presença de barreiras anatômicas à emissão dos primórdios radiciais (ONO; RODRIGUES, 1996).

A estrutura interna do caule influencia o sucesso do enraizamento, visto que algumas espécies utilizadas na estaquia possuem um anel de fibras composto por células esclerenquimáticas, de parede bastante lignificada, que sustentam a planta, sendo que a grande quantidade de fibras e esclereídeos parecem estar relacionadas ao baixo potencial de enraizamento (BEAKBANE, 1961; HARTMANN et al., 2011).

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar as respostas de enraizamento de *Drimys brasiliensis* por meio de miniestacas, coletadas nas quatro estações do ano, correlacionando-as com a estrutura anatômica das mesmas.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1. Miniestaquia

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Propagação de Espécies Florestais da Embrapa Florestas, localizada em Colombo (PR).

O material vegetativo de *Drimys brasiliensis* Miers, depositado no herbário da Embrapa Florestas sob o número HFC nº 7963, foi coletado a partir de brotações de mudas transplantadas em dezembro de 2011, as quais constituíram o minijardim com aproximadamente 800 minicepas (Figura 6.1 A), localizadas na estufa da Embrapa Florestas, em Colombo (PR), sob as coordenadas 25°19'16" de latitude Sul e 49°09'31" de longitude Oeste. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb, isto é, clima caracterizado como temperado úmido com temperatura média do mês mais quente acima de 10 °C, com verões suaves e inverno com geadas frequentes e tendência de concentração de chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida.

As minicepas a cada 15 dias eram adubadas com os macronutrientes MAP, sulfato de magnésio, sulfato de amônio, sulfato de potássio e cloreto de fósforo nas seguintes quantidades 32 gr, 142,4 gr, 44,8 gr, 53,6 gr e 120 gr para 400 litros de solução, respectivamente. E eram utilizados como micronutrientes o ácido bórico, sulfato de manganês, molibdato de sódio e sulfato de zinco com 1,15 gr, 1,48 gr, 0,07 gr e 0,29 gr para 400 litros de solução, respectivamente.

Ramos de *Drimys brasiliensis* foram coletados nos dias 22 de junho de 2012, 15 de outubro de 2012, 07 de janeiro de 2013 e 10 de abril de 2013, correspondendo às épocas do inverno, primavera, verão e outono, respectivamente. A partir destas brotações, foram confeccionadas miniestacas caulinares com aproximadamente 3-5 cm de comprimento, com corte em bisel na base e reto no ápice mantendo duas folhas na porção apical com sua porção reduzida a metade (Figura 6.1 B). Durante o processo de confecção, as miniestacas foram mantidas em balde com água a fim de evitar a desidratação do material.

Em seguida, as bases das miniestacas foram plantadas em tubetes de polipropileno com capacidade de 53 cm³, preenchidos com substrato comercial da

Agrofior[®], contendo 25% de turfa, 25% de fibra de coco e 50% de casca de Pinus. As miniestacas foram plantadas a cerca de $\frac{1}{3}$ de profundidade da base das mesmas (Figura 6.1 C), mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 80% de umidade relativa do ar), pertencente a Embrapa Florestas, em Colombo (PR) (Figura 6.1 D).

O experimento foi implantado segundo um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições contendo 20 estacas por unidade experimental, totalizando 60 miniestacas por estação do ano.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Após o período de 120 dias da instalação do experimento, foram avaliadas as seguintes variáveis:

- I. Porcentagem de miniestacas enraizadas (miniestacas vivas que emitiram raízes de pelo menos 1 mm de comprimento);
- II. Número de raízes por miniestaca;
- III. Comprimento das três maiores raízes por miniestaca (cm);
- IV. Porcentagem de miniestacas com calos (miniestacas vivas, sem raízes, com formação de massa celular indiferenciada na base);
- V. Porcentagem de miniestacas vivas (miniestacas sem a presença de calos e sem raízes);
- VI. Porcentagem de miniestacas mortas (miniestacas com tecidos necrosados);
- VII. Porcentagem de miniestacas brotadas (miniestacas vivas, com ou sem raízes e calos, que apresentavam brotações de novas folhas);
- VIII. Porcentagem de miniestacas que mantiveram suas folhas (miniestacas vivas, com ou sem raízes e calos, que mantiveram as folhas originais no momento da avaliação).

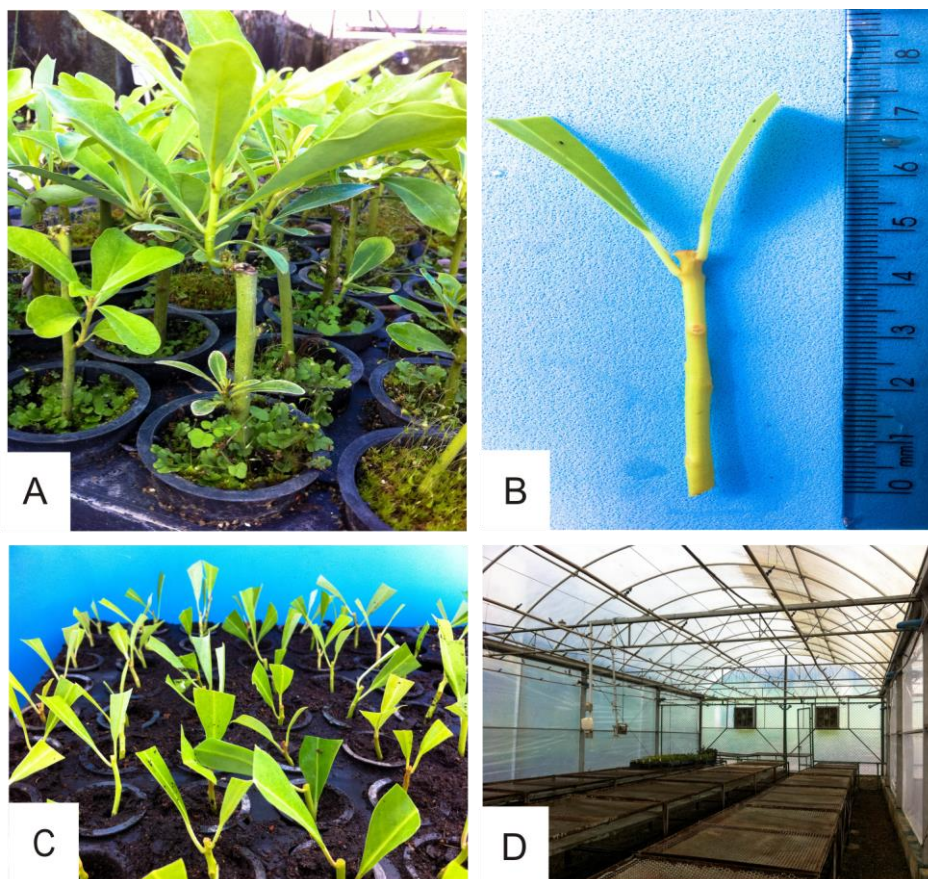


Figura 6.1 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Muda transplantada. **B.** Miniestaca. **C.** Experimento instalado. **D.** Casa de vegetação da Embrapa Florestas.

6.2.2. Análises Anatômicas

Para análise anatômica, ao final dos 120 dias do experimento, no momento da avaliação, foram coletadas amostras da base de 10 miniestacas de *Drimys brasiliensis*, nas estações do outono, inverno, primavera e verão. Essas com aproximadamente 2,0 cm de comprimento foram fixadas em FAA 70 (JOHANSEN, 1940), por 24 horas e conservadas em álcool 70%. Fragmentos de 1,0 cm foram infiltrados em PEG (polietilenoglicol 1500). Estes blocos foram fixados em tutores de madeira e seccionados em micrótomo de rotação (Olympus CUT 4055) com 20 μ m de espessura e submergidos em água destilada para dissolução do PEG. Os cortes foram selecionados e submetidos aos testes histoquímicos, com lugol (BERLYN; MIKSCHE, 1976), para identificação do amido, cloreto férrico (JOHANSEN, 1940), para a identificação de compostos fenólicos e Sudam III (SASS, 1951) para a

identificação de lipídeos. O restante dos cortes foi corado com safrablau para identificação dos tecidos (BUKATSCH, 1972).

As lâminas foram montadas de forma semipermanentes com gelatina glicerizada e vedadas com esmalte incolor. Para a documentação dos resultados foram obtidas fotomicrografias em fotomicroscópio Zeiss com câmera SC 30 Olympus, realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, UFPR, Curitiba (PR).

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1. Miniestaquia

Para as variáveis porcentagem de enraizamento, número médio de raízes por miniestaca e comprimento médio de raízes por miniestaca não houve diferença significativa. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para a porcentagem de miniestacas com calos, vivas, mortas, com brotação e que mantiveram as folhas originais na miniestaca (Tabela 6.1).

Comparando-se as estações do ano estudadas, não houve diferença significativa para a porcentagem de enraizamento (Tabela 6.2). No presente trabalho, constatou-se que as miniestacas de *Drimys brasiliensis* não apresentaram juvenilidade favorável à indução radicial devido à baixa porcentagem de enraizamento nas quatro épocas do ano (Figura 6.2).

Corroborando com os resultados obtidos, Ferriani et al. (2011), estudando o enraizamento de miniestacas de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia*) também não obtiveram efeito significativo das quatro estações do ano para a variável porcentagem de miniestacas enraizadas.

Hartmann et al. (2011), declararam que a juvenilidade do material utilizado reúne condições favoráveis ao enraizamento. No entanto, no presente estudo, a juvenilidade do material vegetativo não foi suficiente para a indução da rizogênese em miniestacas. Segundo Bastos et al. (2004), a formação do sistema radicial está relacionada tanto a fatores interno quanto externos. Com isso, é importante salientar que nas miniestacas de *Drimys brasiliensis*, possivelmente os níveis de auxina endógena não sejam suficientes para promover o enraizamento, podendo haver a necessidade de aplicação exógena de regulador vegetal, além da falta de algum co-fator do enraizamento, o que enquadraria a espécie na classificação de difícil enraizamento.

Tabela 6.1 - Resultados da análise de variância para as variáveis de miniestacas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número médio de raízes por miniestaca (NR), comprimento médio de raízes (CMR), miniestacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, Curitiba (PR), 2013.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio							
		EE	NR	CMR	EC	EV	EM	EB	EMF
		%		cm	%	%	%	%	%
Estações do Ano	3	62,15 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,00 ^{ns}	4355,55 ^{**}	583,33 ^{**}	925,00 ^{**}	4712,15 ^{**}	2178,81 ^{**}
Resíduo	20	56,87	0,01	0,00	213,33	49,16	173,75	250,20	301,87
Total	23								
Coeficiente de Variação (%)		157,39	163,22	157,45	27,39	76,49	65,91	58,86	28,86
Teste de Bartlett (X²)		10,55 ^{ns}	8,51 ^{ns}	12,01 ^{ns}	1,30 ^{ns}	15,32 ^{ns}	8,35 ^{ns}	23,67 ^{ns}	4,69 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%



Figura 6.2 - *Drimys brasiliensis*: **A.** Miniestaca confeccionada no inverno e enraizada. **B.** Miniestaca confeccionada na primavera e enraizada. **C.** Miniestaca confeccionada no verão e enraizada. **D.** Miniestaca confeccionada no outono e enraizada. **E.** Miniestaca com brotação. **F.** Detalhe de calos em miniestaca. **G.** Miniestaca viva. **H.** Miniestaca morta. **I.** Miniestaca com calos.

Com relação ao número médio de raízes e comprimento médio de raízes por miniestaca, não houve diferença significativa para as estações do ano estudadas (Tabela 6.2). Os resultados encontrados podem ser considerados insatisfatórios, devido ao longo período de avaliação dos experimentos de 120 dias.

Tabela 6.2 - Comparação de médias das variáveis de miniestacas de *Drimys brasiliensis* Miers enraizadas (EE), número de raízes por miniestaca (NR), comprimento médio das raízes (CMR), miniestacas com calos (EC), vivas (EV), mortas (EM), com brotação (EB) e que mantiveram folhas (EMF), nas quatro estações do ano, Curitiba (PR), 2013.

Estação do Ano	EE	NR	CMR	EC	EV	EM	EB	EMF
	%		cm	%	%	%	%	%
Inverno	6,66 a	0,11 a	0,05 a	90,00 a	0,00 b	3,33 b	60,00 a	88,33 a
Primavera	8,33 a	0,13 a	0,02 a	56,66 b	1,66 b	33,33 a	40,00 a	55,00 b
Verão	2,50 a	0,05 a	0,01 a	36,66 bc	15,00 a	20,83 ab	6,66 b	50,83 b
Outono	1,66 a	0,03 a	0,00 a	30,00 c	20,00 a	22,50 ab	0,83 b	46,66 b
Coefficiente de Variação (%)	157,39	163,22	157,45	27,39	76,49	65,91	58,86	28,86

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

De acordo com Antunes et al. (1996), o número e o comprimento médio das três maiores raízes por miniestaca são importantes variáveis na produção de mudas, à medida que uma melhor resposta a estas variáveis, corresponderá posteriormente à mudas com melhor desenvolvimento radicial, as quais terão maiores índices de sobrevivência quando transplantadas para o campo.

Discordando dos resultados obtidos, Ferreira (2008), estudando o enraizamento de miniestacas de pau-de-leite (*Sapium glanulatum*) coletadas nas quatro estações do ano, obteve no inverno maior número de raízes formadas (6,06) e maior comprimento médio de raízes (4,10 cm) quando comparada às demais estações. Já Spandre (2010) estudando o enraizamento de miniestacas de guaçatonga (*Casearia sylvestris*), não obteve diferença significativa para o comprimento médio de raízes por estaca nas estações do outono e verão, 1,66 cm e 1,34 cm, respectivamente. Com isso sugere-se que as mudas produzidas a partir de miniestacas coletadas na época em que obteve maior número de raízes por estaca e maior comprimento médio de raízes por estaca podem apresentar um desempenho

mais satisfatório em campo devido ao sistema radicial mais desenvolvido, o que contribui para a absorção mais eficiente de nutriente e consequente crescimento da muda (REIS et al., 2000). No entanto os resultados do presente trabalho mostram um baixo número de raízes por estaca em todas as estações do ano, sendo o sistema radicial apresentado insatisfatório para a boa produção de mudas a campo.

Para a variável porcentagem de estacas com calos, a estação do inverno foi a que apresentou melhor resultado quando comparada à primavera, verão e outono, com 90,00%, 56,66%, 36,66% e 30,00%, respectivamente (Tabela 6.2). Estes resultados demonstram que o material não pode ser considerado juvenil, pois apresenta altos índices de emissão de calos associados a baixos índices de enraizamento de miniestacas.

De acordo com Hartmann et al. (2011), quando as estacas são colocadas em condições de enraizamento, comumente ocorre a formação de calos, os quais são massas irregulares de células parenquimáticas em diferentes estádios de lignificação, que podem se diferenciar em primórdios radiciais. No entanto, a formação de raízes adventícias e de calos é independente. Com isso, verifica-se na Tabela 6.2 uma alta porcentagem de miniestacas com calos em todas as épocas do ano e, conseqüentemente, uma baixa porcentagem de enraizamento, indicando que o período no leito de enraizamento não foi suficiente para a formação de raízes, uma vez que os calos podem vir a se diferenciar em raízes adventícias.

Discordando dos resultados obtidos, Tagliani (2011) estudando miniestacas de pinhão manso (*Jatropha curcas*) obteve maior porcentagem de estacas com calos nas estações da primavera e outono, 32,50% e 15,00%, respectivamente. Em outro trabalho com a mesma espécie, Tagliani et al. (2010), encontrou no verão a maior porcentagem de estacas com calos quando comparada com o inverno, com 2,78% e 0,00%, respectivamente.

Para a porcentagem de estacas vivas, as estações do verão e outono apresentaram os melhores resultados quando comparadas com o inverno e primavera, com 15,00%, 20,00%, 0,00% e 1,66%, respectivamente (Tabela 6.2).

Discordando dos resultados obtidos, Tagliani (2011), estudando miniestacas de pinhão manso (*Jatropha curcas*), comprovou que a primavera foi a época do ano que melhor favoreceu a sobrevivência das miniestacas. Já Ferreira (2008), obteve para miniestacas de pau-de-leite (*Sapium glandulatum*), no outono, maior porcentagem de sobrevivência com 19,44%. Isto salienta que o percentual de

sobrevivência está relacionado não só com a espécie, mas com as condições climáticas da época do ano. No presente trabalho, o inverno, estação do ano em que há as mais baixas temperaturas, apresentou a menor porcentagem de sobrevivência.

Segundo Lima et al. (2006) a alta sobrevivência no verão e outono pode indicar que houve um atraso no enraizamento das miniestacas uma vez que houve uma baixa porcentagem de miniestacas com calos nestas épocas do ano.

Com relação à porcentagem de estacas mortas, o inverno apresentou menor mortalidade com 3,33%, sendo que as demais estações não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 6.2).

A mortalidade de miniestacas é uma variável dependente de diversos fatores, podendo ser estes intrínsecos ao material vegetal, ou mesmo relativos às condições ambientais (HARTMANN et al., 2011).

Para a variável de estacas brotadas, as estações do inverno e primavera foram as que apresentaram maiores porcentagens, 60,00% e 40,00%, respectivamente (Tabela 6.2).

Com relação à porcentagem de estacas que mantiveram suas folhas originais, o inverno foi a estação que apresentou a maior porcentagem com 88,33% (Tabela 6.2). Estes altos índices de manutenção das folhas iniciais possivelmente devem estar relacionados ao início do processo de formação de raízes, onde todos os metabólitos sintetizados ainda na planta matriz podem ser transportados para a região de enraizamento após a confecção das miniestacas, além da função regulatória do estado hídrico das mesmas (OLIVEIRA et al., 2001).

6.3.2. Análises anatômicas

Analisando as secções da base de miniestacas de *Drimys brasiliensis* coletadas nas quatro estações do ano, não houve diferença anatômica entre elas.

O caule encontrava-se em crescimento secundário. A epiderme é uniestratificada com cutícula espessa. Na região mais interna do córtex ocorre bainha de esclerênquima em toda a extensão do córtex adjacente ao floema (Figura 6.3 D).

O floema secundário é contínuo e o xilema apresenta raios estreitos e frequentes alternados com fileiras radiais de elementos traqueais. A faixa cambial é estreita, com duas outras camadas de células indiferenciadas (Figura 6.3 A). A medula é parenquimática com esclereides isoladas ou agrupadas. Estes possuem parede moderadamente espessa, conferindo rigidez ao tecido (ESAU, 1898).

Por meio do teste histoquímico com lugol não foram evidenciadas a presença de grãos de amido (Figura 6.3 A).

O teste com cloreto férrico mostrou a presença de compostos fenólicos nas secções transversais de estacas caulinares de *Drimys brasiliensis* (Figura 6.3 C). Seriam necessários estudos detalhados para identificar a composição química destes compostos, a fim de esclarecer se estes podem ou não influenciar a resposta de enraizamento de *Drimys brasiliensis*, pois, segundo Ono e Rodrigues (1996), os compostos fenólicos podem tanto estimular (monofenóis) como inibir (polifenóis) o enraizamento de estacas. Foi possível observar a presença de lipídeos nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema, identificados pelo teste de Sudam III (figura 6.3 B).

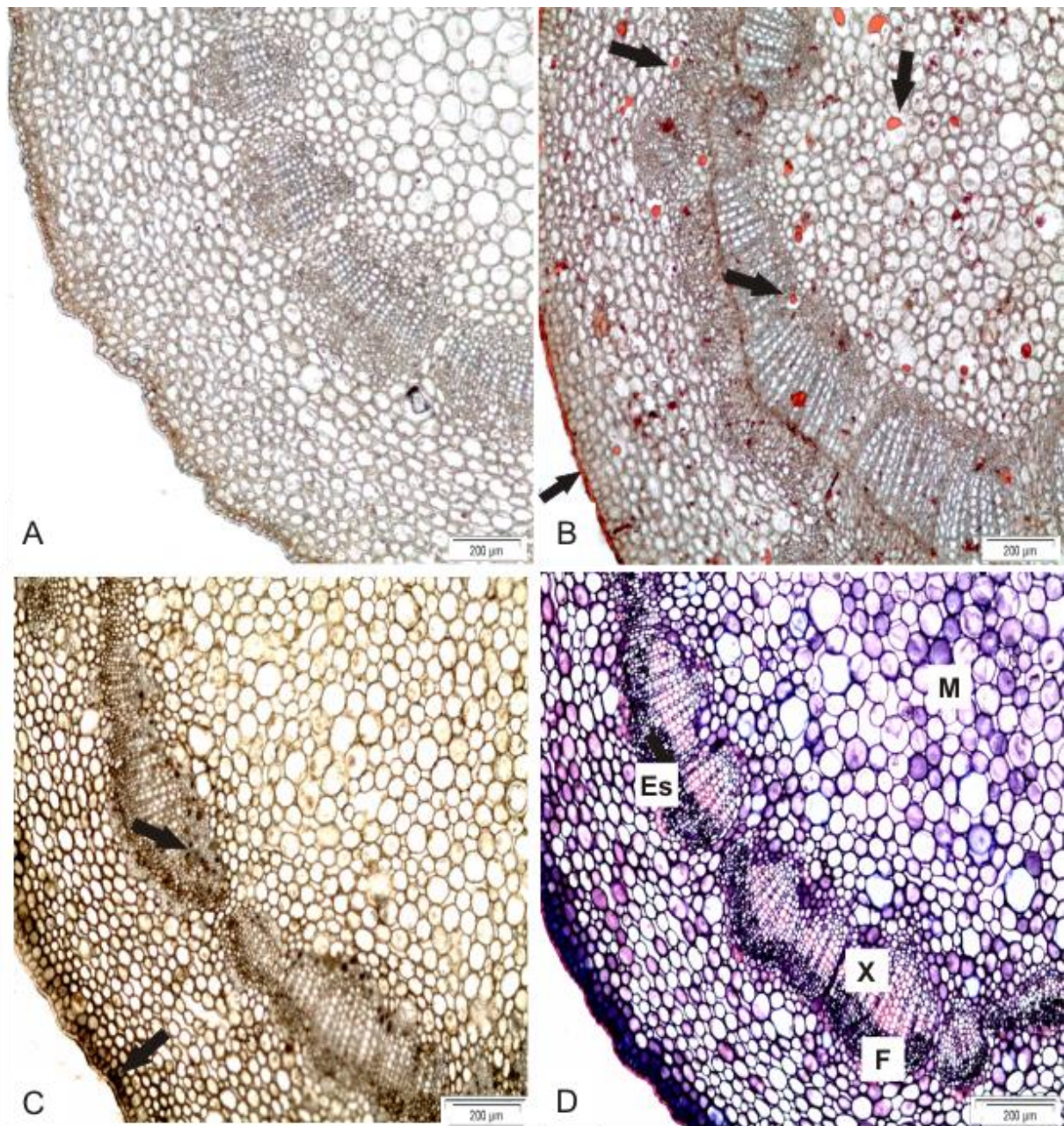


Figura 6.3 - Secções transversais da base de miniestacas caulinares de *Drimys brasiliensis* coletadas nas quatro estações do ano: **A.** Não há presença de amido. **B.** Presença de lipídeos. **C.** Presença de compostos fenólicos. **D.** Vista geral do corte: floema (F), xilema (X), medula (M) e esclereides (Es).

6.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, pode-se concluir que, o uso de miniestacas caulinares de *Drimys brasiliensis* não é indicado para a indução do enraizamento coletada nas quatro estações do ano. O estudo anatômico da espécie evidenciou a presença de lipídios nas células da epiderme e na região da medula, floema e xilema. Houve a presença de compostos fenólicos e ausência de grãos de amido nas secções transversais das estacas. Não foram observadas barreiras anatômicas ao enraizamento das miniestacas.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, J. A. S.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J.; OLIVEIRA JÚNIOR, A. F. Efeito do método de aplicação e de concentrações do ácido indol butírico no enraizamento de estacas semilenhosas de *Pyrus calleryana*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 3, p. 371-376, 1996.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do sul**: guia de identificação e interesse ecológico. Rio de Janeiro: Instituto Souza Cruz. 2002. 321 p.
- BASTOS, D. C.; MARTINS, A. B. G.; SCALOPPI JÚNIOR, J.; SARZI, I; FATINANSI, J. C. Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas apicais e basais de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) sob condições de nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 284-286, 2004.
- BEAKBANE, A. B. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. **Nature**, London, v. 192, n. 4806, p. 954-955, 1961.
- BERLYN, G. P.; MIKSCH, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University, 1976. 276 p.
- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 14, n. 3, p. 255, 1972.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução Berta Lange de Morretes. 3. ed., São Paulo: Edgard Blucher, 1898. 293 p.
- FERREIRA, B. G. A. **Propagação de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por estaquia, miniestaquia e sementes**. 135 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Setor de Fitotecnia e Fitossanitarismo. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; HELM, C. V.; BOZA, A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Produção de brotações e enraizamento de miniestacas de *Piptocarpha angustifolia*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 31, n. 67, p. 257-264, 2011.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

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**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

MARIOT, A.; MANTOVANI, A.; BITTENCOURT, R.; FERREIRA, D. K.; REIS, M. S. Estrutura populacional e incremento corrente anual de casca-de-anta (*Drimys brasiliensis* Miers - Winteraceae) em Caçador, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 12, n. 2, p. 168-178, 2010.

MARTINS, F. S.; ASTARITA, L. V. Estabelecimento *in vitro* de *Drimys brasiliensis* Miers. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 56., 2005, Curitiba. **Resumos...** Curitiba: Sociedade Brasileira de Botânica, 2005.

OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F.; RIOS, M. N. S.; REZENDE, M. E. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria**. Recomendação Técnica 41. Brasília: Embrapa, 2001. 4 p.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83 p.

REIS, J. M. R.; CHALFUN, N. N. J.; LIMA, L. C. O.; LIMA, L. C. Efeito do estiolamento e do ácido indol butírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

SANTARELLI, E. G. Produção de mudas de espécies nativas para florestas ciliares In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. F. **Matas ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: EDUSP/FAPESP, p. 313-317, 2000.

SANTOS, A. P.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, M. L.; REIS, G. G. Efeito da estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação no desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Florestalis**, v. 30, n. 68, p. 29-38, 2005.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2 ed. Iowa: State College Press, 1951. 228 p.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1986. 147 p.

SPANDRE, P. **Produção de óleo essencial e propagação vegetativa de *Casearia sylvestris* Swartz**. 197 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Setor de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

TAGLIANI, M. C. **Propagação do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) por sementes e miniestacas**. 96 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: BR Petrobras, 1997. 19 p.

7. CAPITULO V: CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Drimys brasiliensis* Miers

RESUMO

Drimys brasiliensis Miers é uma espécie nativa da Mata Atlântica, comumente conhecida por cataia. Popularmente é utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarreica, antifebril e antibacteriana. O termo óleo essencial é empregado para designar líquidos oleosos voláteis dotados de forte aroma. Assim, a extração do óleo essencial de folhas frescas e secas permite verificar a composição do mesmo e a qual fim se destina. Folhas frescas de *Drimys brasiliensis* foram coletadas em junho/2012, correspondendo à estação do final do outono, as quais foram picadas, pesadas (100 gramas) e acondicionadas em balão volumétrico de 2000 ml, sendo adicionado 1 litro de água. O material foi colocado em Clevenger e deixado por um período de 4 horas após levantar fervura. Em seguida, o óleo foi retirado e levado para centrífuga. Na segunda extração, folhas frescas foram colocadas em estufa a 45°C durante um período de 7 dias (se tornando folhas secas), e em seguida passaram pelo mesmo procedimento das folhas frescas. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado contendo 3 repetições de 100 gramas para folhas frescas e 3 repetições de 50 gramas para folhas secas. No óleo de folhas frescas foram identificados 49 compostos sendo 65,0% de sesquiterpenos, 12,0% de monoterpenos e 23,0% de outros compostos. Já no óleo de folhas secas identificou-se 40 compostos, 76,1% de sesquiterpenos, 2,0% de monoterpenos e 21,9% de outros compostos. Os principais constituintes para as folhas frescas foram germacreno D (8,9%), biciclogermacreno (5,3%), epi-alfa-cadinol (5,1%), alfa-cadinol (6,0%) e drimenol (9,3%). Já para as folhas secas, os principais constituintes foram germacreno D (6,3%), (E)-nerodidol (5,4%), espatulenol (9,5%), epi-alfa-cadinol (5,5%), alfa-cadinol (6,7%) e drimenol (11,6%). Devido a sua composição, a espécie pode possuir atividades antifúngicas, antibacterianas, além de insetífuga, moluscocida e com propriedades farmacológicas.

Palavras-chave: Cataia; sesquiterpeno; monoterpeno; composição.

CHARACTERIZATION OF THE ESSENTIAL OIL EXTRACTED FROM LEAVES OF *Drimys brasiliensis* Miers

ABSTRACT

Drymis brasiliensis Miers is a species native to the Atlantic Forest, commonly known as cataia or pepper bark. It is traditionally used as a stimulant, antispasmodic, aromatic, relief for diarrhea, antipyretic and antibacterial. The term essential oil is used to describe volatile oily liquids with strong flavor. Essential oil extraction from green and dry leaves permits to verify its composition and use. Green leaves of *Drymis brasiliensis* were collected in June/2012, corresponding to the end of autumn, weighted (100 grams), and accommodated in a 2000 ml volumetric flask, with 1 liter of water added. Then the material was positioned on a Clevenger trap apparatus and let for a period of 4 hours after beginning to boil. The oil obtained was collected and taken to a centrifugal unit. The second extraction was performed as follows: green leaves were placed in an oven at 45°C during 7 days (turning out dry leaves), and then submitted to the same above described treatment for green leaves. The experiment was prepared with a completely randomized design with 3 repetitions of 100 grams for green leaves and 3 repetitions of 50 grams for dry leaves. Green leaves oil revealed 49 components, being 65% of them sesquiterpenes, 12% monoterpenes and 23% other components. Green leaves oil revealed 49 components being 76.1% of them sesquiterpenes, 2.0% monoterpenes and 21.9% other components. The main components of green leaves oil were germacrene D (8.9%), bicyclogermacrene (5.3%), epi-alpha-cadinol (5.1%), alpha-cadinol (6.0%) and drimenol (9.3%). About dry leaves oil, the main components observed were germacrene D (6.3%), (E)-nerolidol (5.4%), espatulenol (9.5%), epi-alpha-cadinol (5.5%), alpha-cadinol (6.7%) and drimenol (11.6%). Due to its essential oil composition, this species confirms to have fungicide, antibacterial, insectifuge, molluscicide potential and pharmacological properties.

Keywords: Cataia; pepper bark; sesquiterpene; monoterpene; composition.

7.1. INTRODUÇÃO

Drimys é o único gênero da família Winteraceae encontrado na América do Sul, ocorrendo no Brasil desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, tanto na Floresta Ombrófila Mista como nas Florestas Estacional Semidecidual e Ombrófila Densa (ABREU et al., 2005). O gênero *Drimys* ocorre no Brasil na variação de duas espécies: *Drimys angustifolia* Miers e *Drimys brasiliensis* Miers, no entanto *Drimys winteri* foi ocasionalmente referida no Brasil por erro de identificação das espécies *Drimys angustifolia* e *Drimys brasiliensis* (TRINTA; SANTOS, 1997). Portanto encontram-se diversos estudos sobre a extração do óleo essencial de *Drimys winteri* no Brasil.

A busca de substâncias bioativas em vegetais é uma atividade que vem desde os primórdios e tem se intensificado nas últimas décadas. O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do planeta e há muitas espécies de plantas nativas que carecem de estudos, sendo *Drimys brasiliensis* uma destas (PERCEBOM et al., 2007).

Drimys brasiliensis Miers, é uma espécie nativa da Mata Atlântica, conhecida popularmente como cataia ou casca-de-anta, de ocorrência no Brasil, nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (TRINTA; SANTOS, 1997).

Popularmente, a espécie é utilizada internamente como estimulante, antiespasmódica, antidiarreica, antifebril, antibacteriana (ALMEIDA, 1993; WINSTON, 1999), a fim de tratar a asma e bronquite, além de possuir propriedades inseticidas (CUNHA et al., 2001). Isto é caracterizado devido à presença de flavonoides e terpenóides (WITAICENIS et al., 2007). No entanto, até o momento foram estudadas apenas três espécies pertencentes ao gênero *Drimys* quanto aos seus constituintes químicos do óleo essencial de suas folhas e cascas, das quais foram isolados principalmente sesquiterpenos e flavonóides (MALHEIROS, 2001).

O termo óleo essencial é empregado para designar líquidos oleosos voláteis dotados de forte aroma, quase sempre agradável e extraído principalmente de plantas (UGAZ, 1994). A sua real finalidade na planta é ainda desconhecida, porém acredita-se que durante o seu desenvolvimento, as plantas superiores sintetizem terpenóides essenciais para o crescimento e desenvolvimento como, por exemplo,

hormônios do crescimento (giberelinas), pigmentos e esteróides (ARAÚJO et al., 2001).

A partir da extração dos óleos de suas cascas isolaram-se diversos compostos químicos como sesquiterpenos, terpenóides e lignanas; e das suas folhas isolaram-se terpenóides e flavonóides com ação antitumoral (SIMÕES et al., 1986).

Segundo Cruz (2013), vários autores relataram a presença mais comum dos sesquiterpenos drimânicos nos extratos e óleos essenciais da espécie, como o drimanal, drimenol, valdiviolide, poligodial, 1-b-(p-metoxicinamoil) poligodial e 1-b-(p-cumaroiloxi) poligodial.

Esses compostos atraem atenção dos pesquisadores pela variedade de atividades biológicas que apresentam como antibacteriana, anti-inflamatória, antialérgica, antifúngica, antitripanossômica, antileishmania e pelas propriedades sensoriais (VICHNEWSKI et al., 1986; BROWN, 1994; CICCÍÓ, 1997; CECHINEL FILHO et al., 1998; MALHEIROS et al., 2001; MUNÕZ-CONCHA et al., 2004; LIMBERGER et al., 2007; RIBEIRO et al., 2008; LAGO et al., 2010; MONSÁLVEZ et al., 2010; CORRÊA et al., 2011).

Há diversos estudos sobre a composição química do óleo essencial da casca de *Drimys brasiliensis*; no entanto, segundo Radomski et al. (2013), existe certa dificuldade nesse estudo devido não ser possível à coleta em grande escala ou em diversas épocas do ano numa mesma planta, pois o exaurimento da casca no caule da mesma acarretaria em impedimento do fluxo da seiva floemática, o que, a longo prazo, culminaria com a morte da planta.

Visando estudar outra alternativa para recomendação de retirada do óleo essencial de *Drimys brasiliensis*, o presente trabalho objetivou caracterizar o óleo essencial de folhas frescas e secas dessa espécie.

7.2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a extração do óleo essencial foram utilizadas folhas de plantas com 5 anos de idade de *Drimys brasiliensis* Miers, depositadas no herbário da Embrapa Florestas sob o número HFC n° 7963, cujas plantas localizam-se na Embrapa Florestas, em Colombo (PR), sob as coordenadas 25°19'16" de latitude Sul e 49°09'31" de longitude Oeste. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb, isto é, clima caracterizado como temperado úmido com temperatura média do mês mais quente acima de 10 °C, com verões suaves e inverno com geadas frequentes e tendência de concentração de chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida.

A extração do óleo essencial de *Drimys brasiliensis* foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizado em Curitiba (PR), sendo as folhas coletadas no dia 04 de junho de 2012, correspondendo à estação do final do outono.

O experimento foi realizado com 100 gramas de folhas frescas e de 50 gramas de folhas secas, coletadas aleatoriamente, as quais foram submetidas à hidrodestilação em aparelho graduado tipo Clevenger (WASICKY, 1963) durante um período de 4 horas após a fervura, conforme a Figura 7.1.

Para a extração do óleo essencial de folhas secas, o material fresco foi deixado em estufa a 45 °C durante um período de 7 dias, a fim de obter-se material seco.

O óleo essencial foi levado para a centrífuga durante 2 minutos a uma rotação de 100 rpm (Figura 7.1 G). As amostras de óleo essencial foram quantificadas e armazenadas a -20 °C até o momento da análise cromatográfica.

A quantificação do óleo essencial foi realizada utilizando-se micropipetas de precisão (100-1000 µL) e pesadas amostras de 30 µL da amostra total extraída e seu peso dividido pelo volume de 30 µL resultando na densidade do óleo essencial (L). O peso total da amostra foi dividido pela densidade resultando no volume em g L⁻¹.

A caracterização química do óleo essencial das folhas de *Drimys brasiliensis* foi realizada pela Embrapa Agroindústria de Alimentos, localizada no Rio de Janeiro (RJ).

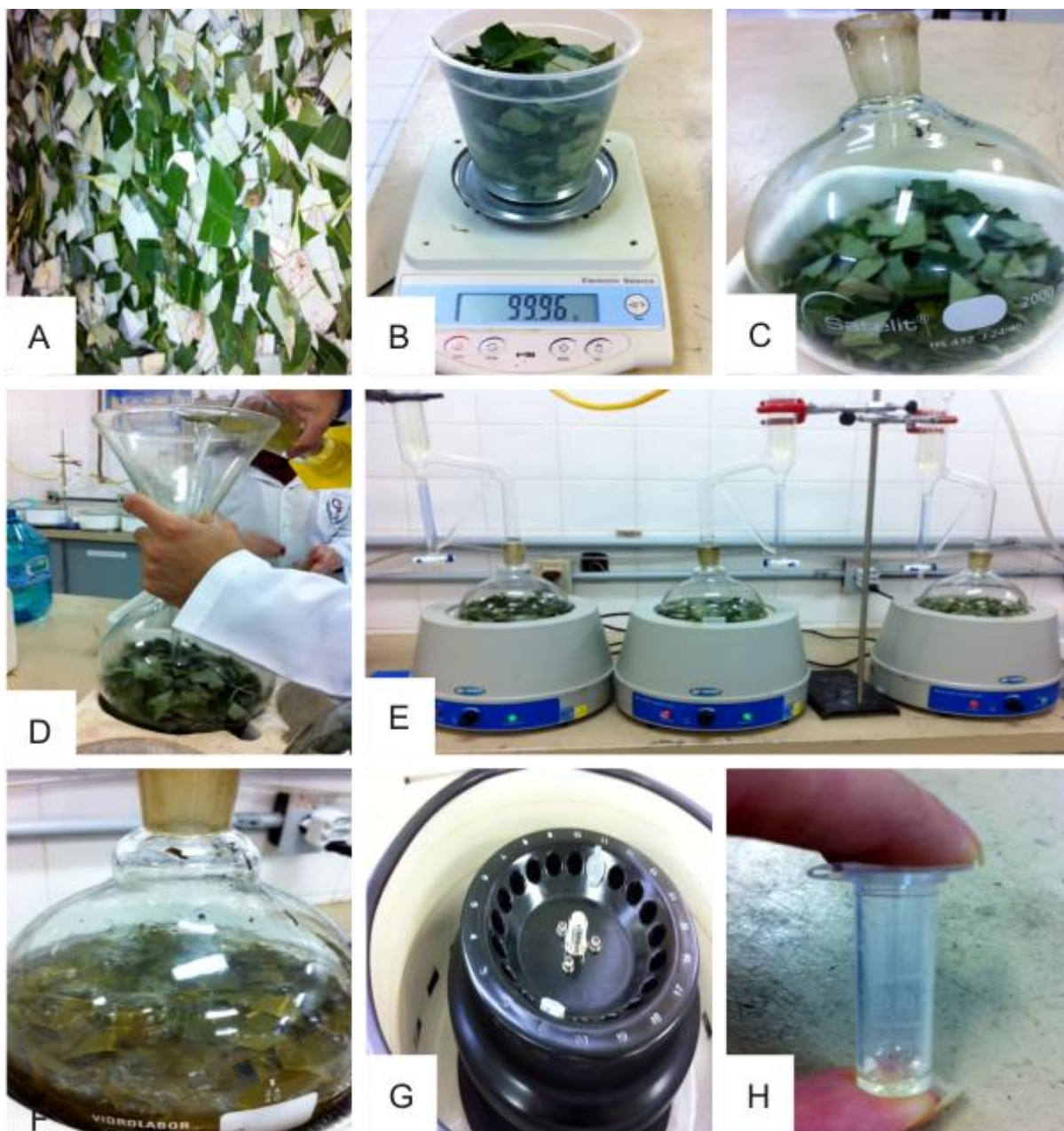


Figura 7.1 - Extração de óleo essencial de *Drimys brasiliensis*: **A.** Folhas picadas. **B.** Pesagem das folhas. **C.** Folhas dentro do balão volumétrico. **D.** Adição de água no balão volumétrico. **E.** Balões no equipamento tipo Clevenger. **F.** Fervura do material. **G.** Material dentro da centrífuga. **H.** Óleo extraído.

7.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química dos óleos essenciais de folhas frescas e secas de *Drimys brasiliensis* é apresentada na Tabela 7.1.

Os constituintes do óleo essencial das folhas frescas e secas mostraram a presença majoritária de sesquiterpenos (Tabela 7.1).

No óleo do material fresco e seco foram identificados 49 e 40 compostos, respectivamente, havendo uma predominância dos sesquiterpenos com 65,0% em folhas frescas e 76,1% em folhas secas. Os sesquiterpenos são derivados de três unidades de isopreno e possuem 15 átomos de carbono, sendo que muitos desses compostos atuam na defesa das plantas como fitoalexinas, ou seja, como antibióticos produzidos pelas plantas em respostas a infecções microbianas além de outros atuarem na prevenção da herbivoria (CROTEAU et al., 2000).

Concordando com os resultados obtidos, Limberger et al. (2007) coletaram folhas de *Drimys brasiliensis* em São Francisco de Paula (RS) e extraíram o óleo de folhas frescas e secas, e obtiveram para ambas uma predominância de sesquiterpenos de 37,1% para folhas frescas e 65,4% para folhas secas. Assim como Lago et al. (2010) que também evidenciaram a predominância dos sesquiterpenos nos óleos das folhas da espécie quando coletadas em Campos do Jordão (SP) com 52,31%.

Tabela 7.1 - Constituintes do óleo essencial de folhas frescas e secas de *Drimys brasiliensis* Miers, Curitiba (PR), 2012.

Identificação do Composto	Teor no Óleo Essencial do Material Fresco	Teor no Óleo Essencial do Material Seco
Alfa-pineno	1,5	0,3
Sabineno	1,0	-
Beta-pineno	2,2	0,5
Mirceno	0,3	-
Alfa-terpineno	0,5	-
Beta-felandreno	3,3	0,5
Gama-terpineno	1,0	-
Terpinoleno	0,5	-
4-terpineol	1,5	0,7
Safrol	1,1	-
Alfa-cubebeno	0,4	0,4
Beta-bourboneno	1,1	1,1
Beta-elemeno	0,8	1,0
(E)-cariofileno	1,0	1,1
Beta-copaeno	0,5	0,5
Alfa-humuleno	0,6	1,0
Gama-muuroleno	0,6	0,7
Germacreno D	8,9	6,3
Biciclogermacreno	5,3	3,9
Alfa-muuroleno	0,5	-
n.i.	0,4	-
Gama-cadineno	0,7	0,8
Delta-cadineno	2,4	2,9
(E)-nerodidol	4,3	5,4
Espatuleno	3,8	9,5
Globulol	3,1	3,6
Viridiflorol	1,4	2,6
n.i.	0,9	-
n.i.	0,9	1,4
Rosifoliol	1,1	1,2
Junenol	1,0	1,1
n.i.	0,8	0,8
Epi-cubenol	2,4	2,4
Isoespatulenol	1,3	2,0
Epi-alfa-cadinol	5,1	5,5
Alfa-muurolol	1,6	2,0
Alfa-cadinol	6,0	6,7

n.i.	5,4	6,3
n.i.	0,8	1,2
Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- alfa-ol	1,0	2,0
n.i.	1,0	0,8
n.i.	2,5	2,7
drimenol	9,3	11,6
n.i.	1,6	2,2
n.i.	2,4	2,6
ent-Rosa-5,15-dieno	2,9	0,9
Drimenino	0,7	0,8
n.i.	1,7	2,1
Kaureno	0,9	0,9
Total (%)	100,0	100,0
Monoterpenos	12,0	2,0
Sesquiterpenos	65,0	76,1
Outros	23,0	21,9

No presente estudo não foi detectado o sesquiterpeno poligodial, comum no óleo essencial de *Drimys brasiliensis* (CICCIÓ, 1997; MALHEIROS et al., 2001; MUÑOZ-CONCHA et al., 2007). Ressalta-se que o sesquiterpeno drimenol, também muito comum no óleo da espécie, foi o constituinte mais abundante encontrado no material fresco (9,3%) e seco (11,6%) (Tabela 7.1).

Ao comparar o óleo extraído das folhas de *Drimys brasiliensis* do presente estudo com o óleo obtido da casca de *Drimys winteri*, estudo feito por Limberger et al. (2007), percebe-se que o composto drimenol presente em maior quantidade no óleo das folhas frescas e secas de *Drimys brasiliensis* (9,3% e 11,6%, respectivamente) apresentou uma baixa porcentagem no óleo da casca de *Drimys winteri* (3,3%).

Além de sesquiterpenos, foram encontrados monoterpenos nos óleos essenciais das folhas frescas e secas de *Drimys brasiliensis*, sendo que as maiores proporções foram encontradas no óleo de folhas frescas quando comparadas as folhas secas com 12% e 2%, respectivamente (Tabela 7.1). Os monoterpenos possuem 10 átomos de carbono e atuam na atração de polinizadores, sendo que vários deles podem ser tóxicos para fungos, bactérias e insetos (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007; NIERO; MALHEIROS, 2010).

Segundo Lago et al. (2010), o óleo da casca mostraram uma presença majoritária de monoterpene (90,02%) em relação aos sesquiterpenos. Já Limberger et al. (2007) encontraram uma predominância de sesquiterpenos (93,4%). Isto mostra que o ambiente pode influenciar na composição química dos metabólitos secundários, uma vez que Lago et al. (2010) realizou a coleta do material em Campos do Jordão (SP) e Limberger et al. (2007) em São Francisco de Paula (RS). Desse modo argumenta-se que a temperatura é, possivelmente, um dos fatores que pode influenciar a composição química do óleo essencial de *Drimys brasiliensis* (CRUZ, 2013).

Os compostos majoritários, teor relativo > 5,0%, presentes no óleo essencial do material fresco foram germacreno D (8,9%), biciclogermacreno (5,3%), epi-alfa-cadinol (5,1%), alfa-cadinol (6,0%) e drimenol (9,3%). Já para o material seco foram germacreno D (6,3%), (E)-nerodidol (5,4%), espatulenol (9,5%), epi-alfa-cadinol (5,5%), alfa-cadinol (6,7%) e drimenol (11,6%) (Tabela 7.1).

Santos et al. (2013) coletaram folhas de *Drimys brasiliensis* na cidade de Mogi Guaçu (SP), e obtiveram variações nos seguintes constituintes 9,5% sabineno, 10,5% de mirceno, 10,6% de limoneno e 28,3% de ciclocolorenona. Já Gomes et al. (2013), coletaram folhas da espécie em São Jerônimo (RS), submeteram-nas à cromatografia e observaram que dos 96,6% dos compostos identificados, aquele que se destacou foi o ciclocolorenona (18,3%), seguido de terpinen-4-ol (8,4%) e miristicina (6,6%). Por fim, Lago et al. (2010), extraíram o óleo essencial de folhas de *Drimys brasiliensis* coletadas em Campos do Jordão (SP) e identificaram dezesseis compostos voláteis, predominando os sesquiterpenos (52,31%), sendo os principais derivados o cedreno (6,87%), biciclogermacreno (5,31%), t-murolol (7,75%) e drimenol (9,96%).

Discordando dos resultados obtidos no presente trabalho, Limberger et al. (2007) estudando os óleos essenciais de *Drimys brasiliensis* Miers mostraram uma predominância de monoterpene no óleo das folhas frescas e secas e de sesquiterpenos no óleo das cascas, apresentando o ciclocolorenona como composto majoritário (16,0% em folhas frescas, 32,3% em folhas e quase 50% no óleo da casca do caule).

Estas diferenças químicas encontradas entre o óleo essencial do presente estudo com os encontrados em literatura podem ser atribuídas às condições microclimáticas relacionadas com os diferentes tipos de ambientes e locais

geográficos em que as plantas se desenvolveram. Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), a produção de óleos essenciais de *Drimys brasiliensis*, assim como a produção de outros metabólitos secundários, é fortemente influenciada pelos fatores ambientais.

O germacreno D funciona como sinalizador fundamental no relacionamento de plantas e insetos além de ser um composto de atividade antibacteriana e insetífuga (PETRAKIS et al., 2005; DEUSCHLE et al., 2007; FRANCESCATO et al., 2007). O biciclogermacreno possui atividade antifúngica e antibacteriana e apesar de estar presente no óleo essencial de diversas espécies, são poucos os trabalhos desenvolvidos relacionados a este metabólito secundário (DOGNINI, 2012).

O α -cadinol e o espatulenol são compostos de ação anticâncer reconhecida (COMPAGNONE et al., 2010), sendo que o espatulenol possui ainda atividade biológica e farmacológica, como imunomoduladora e antibacteriana (LIMBERGER et al., 2007; ALCANTARA et al., 2010; ZIAEI et al., 2010) e, o α -cadinol é utilizado na criação e manufatura de concentrados de fragrância e sabor de diversos tipos, além de possui odor de madeira. O α -cadinol ainda apresenta alta atividade acaricida contra *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Dermatophagoides farinae* Hughes (ASHURST, 1999; CHANG et al., 2001).

A presença do sesquiterpeno drimenol é notável na composição do óleo da espécie (9,3% e 11,6% em folhas frescas e secas, respectivamente). Esta classe de sesquiterpeno ocorre em um grupo restrito de angiospermas, como Winteraceae, Solanaceae, Canellaceae, Taxaceae e Polygonaceae, e tem atraído particular interesse devido à sua ampla gama de atividade biológica e às propriedades sensoriais (JANSEN; GROOT, 1991; BROWN, 1994; MONTAGNAC et al., 1996; SIEMS et al., 1996; ISHIKAWA et al., 1997; CECHINEL-FILHO et al., 1998; ANDRE et al., 1999; MASHIMBYE et al., 1999; ALVES et al., 2001; ARANDA et al., 2001; KUBO et al., 2001; MALHEIROS, 2001; MANGURO et al., 2003; NGUYEN et al., 2003; ASAKAWA, 2004).

O drimenol foi isolado primeiramente em 1948 por Appel et al. (1959), a partir do óleo essencial obtido de cascas de *Drimys winteri* Forst, tendo sua estrutura e estereoquímica determinada pelos mesmos autores.

Os sesquiterpenos com a estrutura do drimano podem apresentar atividades biológicas como: antibacteriana, antifúngica, citotoxicidade, moluscocida, entre outras (JANSEN; GROOT, 1991). Além disso, podem apresentar um gosto quente, como

por exemplo, na Tasmânia, onde as sementes de *Drimys lanceolata* são utilizadas como substituto da pimenta devido à presença de alguns drimanos em seu óleo essencial (MAIDEN, 1889).

Diante deste potencial, o drimenol vem sendo utilizado como material de partida para a obtenção de outros drimanos naturais mais ativos ou derivados semi-sintéticos com atividade biológica mais acentuada (JANSEN; GROOT, 1991; KUCHKOVA et al., 2004; KUCHKOVA et al., 2005; ZÁRRAGA et al., 2008; KUCHKOVA et al., 2009). Outra aplicação importante do drimenol é ser um precursor para o ambrox e isoambrox, que são os mais importantes substitutos sintéticos do ambergris, atualmente um dos mais valiosos e um dos poucos materiais utilizado na perfumaria de origem animal (BENITES et al., 2006).

Um estudo usando folhas frescas e secas de *Drimys brasilienses* realizado por Limberger et al. (2007) mostra uma concentração de drimenol com 11,3% do para folhas frescas e 0,1% para folhas secas, diferente do que foi observado neste estudo, onde se obteve uma concentração de 9,3% para folhas frescas e 11,6% para folhas secas. Isto pode ser explicado devido à época bem como a região de coleta do material.

É importante salientar que alguns compostos do presente estudo como o beta-elemeno, (E)-cariofileno, alfa-humuleno, gama-muuroleno, delta-cadineno, (E)-nerodidol, espatulenol, globulol, viridiflorol, rosifoliol, junenol, isoespatulenol, epi-alfa-cadinol, alfa-muurolol, alfa-cadinol, germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-alfa-ol e drimenol, após a secagem das folhas, apresentaram um incremento na porcentagem do óleo essencial. Isto demonstra que a secagem das folhas à temperatura de 45 °C influencia qualitativamente no óleo essencial de *Drimys brasiliensis*.

7.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, pode-se concluir que, pela caracterização do óleo essencial de folhas de *Drimys brasiliensis*, houve uma predominância de sesquiterpenos no material fresco (65,0%) e no material seco (76,1%). Os principais constituintes do material fresco foram germacreno D (8,9%), biciclogermacreno (5,3%), epi-alfa-cadinol (5,1%), alfa-cadinol (6,0%) e drimenol (9,3%) e para o material seco foram germacreno D (6,3%), (E)-nerodidol (5,4%), espatulenol (9,5%), epi-alfa-cadinol (5,5%), alfa-cadinol (6,7%) e drimenol (11,6%), evidenciando o fato de que a composição e quantidade dos compostos se alteram quando as folhas verdes tornam-se secas. Devido a sua composição, a espécie pode possuir algumas atividades como antifúngicas, antibacterianas, insetífuga, farmacológica, e moluscocida.

REFERÊNCIAS

ALCANTARA, J. M.; KAZUMY, K.; YAMAGUCHI, D. L.; ROCHA, J.; SILVA, D. A. Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán (Lauraceae). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, n. 3, p. 567-571, 2010.

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras, conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Hemus, 1993.

ALVES, T. M. A.; RIBEIRO, F. L.; KLOOS, H.; ZANI, C. L. Polygodial, the fungitoxic component from the Brazilians Medicinal plant *Polygonum punctatum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 831-833, 2001.

ANDRE, E.; MALHEIROS, A.; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Mechanisms underlying the relaxation caused by the sesquiterpene polygodial in vessels from rabbit and guinea-pig. **European Journal Pharmacology**, Amsterdão, v. 386, n. 1, p. 47-53, 1999.

APPEL, H. H.; BROOKS, C. J. W.; OVERTON, K. H. The constitution and stereochemistry of drimenol, a novel bicyclic sesquiterpenoid. **Journal of the Chemical Society**, London, n. 11, p. 3322-3332, 1959.

ARANDA, G.; CORTE'S, M.; MAURS, M.; AZERAD, R. Microbiologically-assisted hemisynthesis of 1- α -hydroxydrimenol. **Tetrahedron Asymmetry**, Keystone, v. 12, n. 14, p. 2013-2018, 2001.

ARAUJO, A. J.; LORDELLO, A. L. L.; SALES MAIA, B. H. L. N. Análise comparativa dos óleos essenciais de folhas e galhos de *Ocotea puberula* (LAURACEAE). **Revista Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 2, n. 2, p. 81-84, 2001.

ASAKAWA, Y. Chemosystematics of the Hepaticae. **Phytochemistry**, Keystone, v. 65, n. 6, p. 623-669, 2004.

ASHURST, P. R. **Food flavorings**. Aspen Publish. 3. ed. Gaithersburg, Md: Aspen, 1999. 664 p.

BENITES, J.; LOPES, J.; FARIAS, J. G.; CORTES, M. The preparation of oxygenated derivatives of ambrox and isoambrox from drimenol. **Journal of the Chilean Chemical Society**, Chile, v. 51, n. 3, p. 979-981, 2006.

BROWN, G. D. Drimendiol, a sesquiterpene from *Drymis winterii*. **Phytochemistry**, Keystone, v. 35, n. 4, p. 975-977, 1994.

CECHINEL-FILHO, V.; SCHLEMPER, V.; SANTOS, A. R. S.; PINHEIRO, T. R.; YUNES, R. A.; MENDES, G. L.; CALIXTO, J. B.; MONACHE, F. D. Isolation and identification of active compounds from *Drimys winteri* barks. **Journal Ethnopharmacol**, Keystone, v. 62, n. 3, p. 223-227, 1998.

CHANG, S. T.; CHEN, P. F.; WANG, S. Y.; WU, H. H. Antimite activity of essential oils and this constituents from Taiwan cryptomerioides. **Journal of Medical Entomology**, Annapolis, v. 38, n. 3, p. 455-457, 2001.

CICCIÓ, J. F. Aceites esenciales de las hojas y de los frutos verdes de *Drimys granadensis* (Winteraceae). **Revista de Biología Tropical**, San Jose, v. 44, n. 3, p. 29-33, 1997

COMPAGNONE, R. S.; CHAVEZ, K.; MATEU, E.; ORSINI, G.; ARVELO, F.; SUÁREZ, A. L. Composition and cytotoxic activity of essential oils from *Croton matourensis* and *Croton micans* from Venezuela. **Methods**, Venezuela, v. 4, n. 2, p. 101-108, 2010.

CORRÊA, D. S.; TEMPONE, A. G.; REIMAO, J. Q.; TANIWAKI, N. N.; ROMOFF, P.; FAVERO, O. A.; SARTORELLI, P.; MECCHI, M. C.; LAGO, J. H. G. Anti-leishmanial and anti-trypanosomal potential of polygodial isolated from stem barks of *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). **Parasitology Research**, Berlin, v. 109, n. 1, p. 231-236, 2011.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: _____. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Chichester: J. Wiley, p. 1250-1318, 2000.

CRUZ, B. P. **Comparação da anatomia foliar e dos óleos essenciais de *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) em uma floresta ombrófila densa altomontana**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Botânica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

CUNHA, F. M.; FRODE, T. S.; MENDES, G. L.; MALHEIROS, A.; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Additional evidence for the anti-inflammatory and anti-allergic properties of the sesquiterpene polygodial. **Life Sciences**, Keystone, v. 70, n. 2, p. 159-169, 2001.

DEUSCHLE, R. A. N.; CARMARGO, T. D.; ALVES, S. H.; MALLMANN, C. A.; HEIZMANN, B. M.; Fracionamento do extrato diclorometânico de *Senecio desiderabilis* Vellozo e avaliação da atividade antimicrobiana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 220-223, 2007.

DOGNINI, J. **Estudo químico e avaliação da atividade antibacteriana de constituintes voláteis de *Drimys angustifolia* e *Piper xylosteoides***. 107 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Setor de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2012.

FRANCESCATO, L. N.; DEUSCHLE, R. A. N.; MALLMANN, C. A.; ALVES, S. H.; HEIZMANN, B. M. Atividade antimicrobiana de *Senecio heterotrichus* DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 239-245, 2007.

GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature Chemical Biology**, Cambridge, v. 3, n. 7, p. 408-414, 2007.

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

GOMES, M. R. F.; SCHUH, R. S.; JACQUES, A. L. B.; DORNELES, G. G.; MONTANHA, J.; ROEHE, P. M.; BORDIGNON, S.; DALLEGRAVE, E.; LEAL, M. B.; LIMBERGER, R. P. Biological assessment (antiviral and antioxidante) and acute toxicity of essencial oils from *Drimys angustifolia* and *D. brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 284-290, 2013.

ISHIKAWA, H.; SUZUKI, Y.; SAKAI, A.; ISHIKUZA, S. LOTTE CO. LTD; TOYOTAMA PERFUMERY CO LTD **Sesquiterpene: sensory properties of essencial oils**. United States, Patent US 5523105, 1997.

JANSEN, B. J. M.; GROOT, A. D. The occurrence and biological activity of drimane sesquiterpenoids. **Natural Product Reports**, London, v. 8, n. 3, p. 309-318, 1991.

KUBO, I.; FUJI K.; LEE, S. L. Antifungal mechanism of polygodial. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 3, p. 1607-1611, 2001.

KUCHKOVA, K. I.; ARICU, A. N.; DRAGALIN, I. P.; VLAD, P. F. Convenient synthesis of drimenol and its oxidation with selenium dioxide. **Russian Chemical Bulletin**, Moscow, v. 53, n. 12, p. 2862-2865, 2004.

KUCHKOVA, K. I.; ARICU, A. N.; DRAGALIN, I. P.; VLAD, P. F. Synthesis of drim-9(11)-en-8 α -and-8 β -ols from drimenol. **Chemistry of Natural Compounds**, New York, v. 41, n. 2, p. 190-193, 2005.

KUCHKOVA, K. I.; ARYCU, A. N.; VLAD, P. F. Synthesis of 11-aminodrim-7-ene from drimenol. **Chemistry of Natural Compounds**, New York, v. 45, n. 3, p. 367-370, 2009.

LAGO, J. H. G.; CARVALHO, L. A. C.; SILVA, F. S.; TYAMA, D. O.; FÁVERO, O. A.; ROMOFFO, P. Chemical composition and anti-inflammatory evaluation of essential oils from leaves and stem barks from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 21, n. 9, p. 1760-1765, 2010.

LIMBERGER, R. P.; SCOPEL, M.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Comparative analysis of volatiles from *Drimys brasiliensis* Miers and *D. angustifolia* Miers

(Winteraceae) from Southern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, Keystone, v. 35, n. 3, p. 130-137, 2007.

MAIDEN, J. H. **The useful native plants of Australia**. Sydney: Turner and Henderson, 1889.

MALHEIROS, A. **Estudos químicos farmacológicos e alelopáticos das espécies *Drimys angustifolia* e *Drimys brasiliensis* (Winteraceae)**. 184 f. Tese (Doutorado em Química) - Setor de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; SCHMITT, C. B.; SANTOS, A. R. S.; SCHEIDT, C.; CALIXTO, J. B.; MONACHE, F. D.; YUNES, R. A. A sesquiterpene drimane with antinociceptive activity from *Drimys winteri* bark. **Phytochemistry**, New York, v. 57, p. 103-107, 2001.

MAGURO, L. D. A.; UGI, I.; HERMANN, R.; LEMMEN, P. Flavonol and drimane-type sesquiterpene glycosides of *Warburgia stuhlmannii*. **Phytochemistry**, Keystone, v. 63, n. 4, p. 497-502, 2003.

MASHIMBYE, M. J.; MAUMELA, M. C.; DREWES, S. E. A drimane sesquiterpenoid lactone from *Warburgia salutaris*. **Phytochemistry**, Keystone, v. 51, n. 3, p. 435-438, 1999.

MONSÁLVEZ, M.; ZAPATA, N.; VARGAS, M.; BERTI, M.; BITTNER, M.; HERNANDEZ, V. Antifungal effects of n-hexane extract and essential oil of *Drimys winteri* bark against take-all disease. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 31, n. 2, p. 239-244, 2010.

MONTAGNAC, A.; MARTIN, M. T.; DEBITUS, C.; PAIS, M. Drimane sesquiterpenes from the sponge *Dysidea fusca*. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 59, n. 9, p. 866-868, 1996.

MUÑOZ-COCHA, D.; VOGEL, H.; RAZMILIC, I. Variación de compuestos químicos em hojas de poblaciones de *Drimys* spp. (Magnoliophyta: Winteraceae) em Chile. **Revista Chilena de História Natural**, Santiago de Chile, v. 77, n. 1, p. 43-50, 2004.

NGUYEN, N. T.; BANSKOLE, A. H.; TEZUKA, Y.; WOBOKAWA, T.; SHIGETOSHI, K. Diterpenes and sesquiterpenes from the bark of *Taxus yunnanensis*. **Phytochemistry**, Keystone, v. 64, n. 6, p. 1141-1147, 2003.

NIERO, R.; MALHEIROS, A. Métodos de separação e identificação de princípios ativos naturais. **V Simpósio Iberoamericano de Plantas Medicinais**, Itajaí, 2010.

PERCEBOM, A. M.; SHEPHERD, G.; IMAMURA, P. M. Estudo fitoquímico de *Drimys brasiliensis*. Sociedade Brasileira de Química, São Paulo, **30º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007.

PETRAKIS, V. P.; ROUSSIS, V.; PAPADIMITRIOU, D.; VAGIAS, C.; TSITSIMPIKOU, C. The effect of terpenoid extracts from 15 pine species on the feeding behavioural sequence of the late instars of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa*. **Behav Process**, Keystone, v. 69, n. 3, p. 303-322, 2005.

RADOMSKI, M. I.; WEISER, A. H.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; FONSECA, K. R.; CARPANEZZI, A. A. **Cataia (*Drimys brasiliensis* Miers)**. Colombo: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Florestas, 2013. Documentos.

RIBEIRO, V. L.; ROLIM, V.; BORDIGNON, S.; HENRIQUE, A. T.; DORNELES, G. G.; LIMBERGER, R. P.; VON POSER, G. Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miers (winteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasitology Research**, Berlin, v. 102, n. 3, p. 531-535, 2008.

SANTOS, T. G.; DOGNINI, J.; BEGNINI, I. M.; REBELO, R. A.; VERDI, M.; GASPER, A. L.; DALMARCO, E. M. Chemical characterization of the essential oils of *Drimys angustifolia* Miers (Winteraceae) and antibacterial activity of their major compounds. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 164-170, 2013.

SIEMS, K.; WEIGT, F.; WOLLENWEBER, E. Diterpenes from the epicuticular wax of the fern *Nephrolepis biserrata*. **Phytochemistry**, Keystone, v. 4, n. 4, p. 1119-1121, 1996.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1986. 147 p.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: BR Petrobras, 1997. 19 p.

UGAZ, O. L. **Investigación Fitoquímica: métodos en el estudio de Productos Naturales**. 2. ed. Peru: Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994.

VICHNEWSKI, W.; KULANTHAIVEL, P. P.; HERZ, W. Drimane derivatives from *Drimys brasiliensis*. **Phytochemistry**, New York, v. 25, n. 6, p. 1476-1478, 1986.

WASICK, R. Uma modificação do aparelho de Clevenger para extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 77-81, 1963.

WITAICENIS, A.; ROLDÃO, E. F.; SEITO, L. N.; ROCHA, L. C.; DI STASI, L. C. Pharmacological and Toxicological studies of *Drimys angustifolia* Miers. (Winteraceae). **Journal Ethnopharmacology**, Keystone, v. 111, n. 3, p. 541-546, 2007.

ZÁRRAGA, M.; ZÁRRAGA, A. M.; RODRÍGUEZ, B.; PÉREZ, C.; PAZ, C.; PAZ, P.; SANHUEZA, C. Synthesis of a new nitrogenated drimane derivative with antifungal activity. **Tetrahedron Letters**, Keystone, v. 49, n. 32, p. 4775-4776, 2008.

ZIAEI, A.; RAMEZANI, M.; WRIGHT, L.; PAETZ, C.; SCHNEIDER, B.; IRGHOFAM, Z. Identification of spathulenol in *Salvia mirzayanii* and the immunomodulatory effects. **Phytotherapy Research**, London, v. 25, n. 4, p. 557-562, 2010.

8. CAPITULO VI: USO DE *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum PARA PRODUÇÃO DE AGUARDENTE COMPOSTA

RESUMO

Drimys brasiliensis Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, apesar de espécies diferentes, possuem o mesmo nome popular, cataia, sendo suas folhas utilizadas tipicamente por moradores do litoral paranaense, para aromatizar cachaça e licor, adquirindo assim importância econômica por agregar valor a produtos artesanais. A aguardente, bebida com teor alcóolico de 38 a 54% obtida do destilado alcóolico simples ou a partir do mosto fermentado da cana-de-açúcar, e a cachaça, aguardente de cana produzida no Brasil com teor alcóolico de 38 a 48% obtida pela destilação do mosto fermentado com características sensoriais peculiares, são muito apreciadas no Brasil, devido ao seu sabor e aroma, porém sua caracterização somente do ponto de vista químico não é suficiente e necessita ser complementada pelo conhecimento dos atributos sensoriais da bebida. A partir dos conceitos de análise sensorial, ciência usada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações características dos produtos pelo sentido da visão, olfato, paladar, tato e audição, foram coletadas folhas sadias de ambas as espécies e colocadas em infusão na cachaça ou aguardente. No primeiro experimento foram utilizadas folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* e folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis*, sendo que cada amostra foi pesada nas quantidades de 1, 2 e 4 g L⁻¹ e colocadas em garrafas de vidro preparadas em quatro tempos de infusão de 30, 60, 90 e 120 dias. No segundo experimento foram utilizadas 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* nos mesmos tempos de infusão, as quais foram adicionadas em cachaça não envelhecida com 47,5% e 39,0% de álcool e aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool. A cada 30 dias foram coletadas alíquotas do produto para leitura em espectrofotômetro a 430 nm e ao final de 120 dias foi calculada a acidez total de cada amostra. Para a análise sensorial, uma equipe julgadora definiu as amostras a serem utilizadas, num total de seis amostras por experimento. Diante do volume total dos tratamentos, cada convidado recebeu 5 ml de bebida/amostra, os quais foram apresentados de uma única vez. Os testes de preferência foram realizados a partir da expressão da opinião em escala Hedônica. A cachaça com 4 g L⁻¹ de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* e de folhas verdes e secas de *Drimys brasiliensis* e a cachaça não envelhecida com 47,5% e 39,0% de álcool com a infusão de 2 g L⁻¹ de folha secas de *Drimys brasiliensis* foram as que apresentaram maior acidez. As cachaças com infusão de 4 g L⁻¹ de folhas de *Drimys brasiliensis* e *Pimenta pseudocaryophyllus* foram as que apresentaram maior coloração. A cachaça com 4 g L⁻¹ de folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus* foi a mais aceita pelos consumidores e os diferentes teores alcóolicos de cachaça com e sem a infusão de folhas de *Drimys brasiliensis* foram igualmente aceitos pelos consumidores.

Palavras-chave: Cachaça; cataia; folhas; infusão; análise sensorial.

USE OF *Drimys brasiliensis* Miers AND *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum FOR THE PRODUCTION OF FLAVORED SUGAR CANE SPIRIT

ABSTRACT

Drimys brasiliensis Miers and *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, although being different species, share the same common name cataia, or pepper bark, and their leaves are typically used by residents of the Parana state coast in the flavouring of “cachaça” and liquors. These plants then assume an economic interest for aggregating value to artisanal products. “Aguardente”, a spirit with 38 to 54%, alcohol content, obtained by distillation of sugar cane simple juice or fermented mash, and “cachaça”, distilled spirit produced in Brazil, obtained exclusively from distillation of sugar cane fermented mash, with 38 to 48% alcohol content and very peculiar sensory characteristics, are very appreciated drinks in Brazil because of their flavor and aroma, however, characterization of these drinks only on a chemical point of view is not sufficient and must be completed with the knowledge of their sensory properties. Sensory analysis concepts, the science used to evoke, measure, analyze and interpret the reaction to products characteristics due to vision, smell, taste and hearing, were then applied to complete the experiments. Healthy and sound leaves from both species were collected and accommodated in infusion with “cachaça” or “aguardente”. Dry leaves of *Pimenta pseudocaryophyllus*, green and dry leaves of *Drimys brasiliensis* were used in the first experiment. Each sample was weighted in 1, 2 and 4 g L⁻¹ and placed in infusion into glass bottles during four infusion periods of 30, 60, 90 and 120 days. In the second experiment, 2 g L⁻¹ of *Drimys brasiliensis* dry leaves were used during the same infusion periods, placed into not aged “cachaça” with 47.5% and 39.0% alcohol content and into not aged sugar cane “aguardente” with 39.0% alcohol content. Every 30 days samples of the products were collected to be read with a 430 nm spectrophotometer and when the 120 days period was over, total acidity of all the samples was calculated. For the sensory analysis, a judging team determined which samples were to be submitted to the public, totalizing six samples for each experiment. Out of the total volume of the treatments, each guest received 6 glasses with 5 ml of sample/drink that were presented one single time. Preference tests were performed asking the guests to express appreciation of drinks on an Hedonic scale. “Cachaça” with 4 g L⁻¹ of *Pimenta pseudocaryophyllus* dry leaves and of *Drimys brasiliensis* green and dry leaves and not aged “cachaça” with 47.5% and 39,0% alcohol with the infusion of 2 g L⁻¹ of *Drimys brasiliensis* dry leaves were the ones that presented highest acidity. The most colored were the infusions of “cachaca” with 4 g L⁻¹ of *Drimys brasiliensis* and *Pimenta pseudocaryophyllus* leaves. “Cachaça” with 4 g L⁻¹ of *Pimenta pseudocaryophyllus* was the most accepted by consumers and the different alcohol contents of “cachaça” with and without infusion of *Drimys brasiliensis* leaves were equally accepted by the consumers.

Keywords: Cachaça; cataia; pepper bark; leaves; infusion; sensory analysis.

8.1. INTRODUÇÃO

Drimys brasiliensis Miers é uma espécie arbórea, pertencente à família Winteraceae, nativa da Mata Atlântica, que se configura entre as Florestas Tropicais mais ameaçadas e biodiversas do planeta (TRINTA; SANTOS, 1997).

Pimenta pseudocaryophyllus (Gomes) Landrum é uma espécie arbórea, pertencente à família Myrtaceae, bastante comum no Sul do Brasil, sobretudo na Floresta Ombrófila, ocorrendo na caatinga da Bahia e na mata Atlântica do alto da Serra do Mar desde o Estado de São Paulo até o Estado de Santa Catarina (BRANDÃO, 2002; GIRARD, 2005).

Ambas as espécies são comumente conhecidas como cataia, apresentando uma importância econômica, uma vez que suas folhas são artesanalmente adicionadas à cachaça ou licor, pela população rural que habita nas proximidades dessa espécie (SCHULTZ, 1975; BARROSO, 1978; BARROS et al., 1991; LORENZI, 1992; LONGHI, 1995; KOEHLER et al., 2002; SOBRAL, 2003; FRANÇA; STEHMANN, 2004; FLORA SBS, 2011).

Segundo o Art. 72 do Decreto nº 6.871, de 2009, aguardente composta é a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% em volume, a 20 °C, resultante da adição de substância de origem vegetal ou animal na aguardente ou no destilado alcoólico simples ou na mistura destes ingredientes alcoólicos. É elaborada por meio de processo tecnológico adequado que assegure sua apresentação e conservação até o momento do consumo.

A aguardente de cana é definida como sendo uma bebida com graduação alcoólica de 38% a 54% em volume, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar. Já a cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38% a 48% em volume, obtida pela destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares (BRASIL, 2005).

A aguardente e a cachaça são muito apreciadas devido ao seu sabor e aroma característicos, os quais são decorrentes dos processos de fermentação, destilação e envelhecimento da cana de açúcar. Impulsionado pela necessidade de conquista do mercado externo, existe um esforço do setor produtivo e dos laboratórios de

pesquisa para a melhoria da qualidade da cachaça. A descrição qualitativa e quantitativa dos compostos químicos presentes tem recebido constante atenção por parte de diversos centros de pesquisa. Porém, a caracterização da cachaça, somente sobre o ponto de vista químico, apesar de relevante, não é suficiente, necessitando ser complementada pelo conhecimento dos atributos sensoriais da bebida (PINHEIRO, 2010).

A análise sensorial é a ciência usada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações às características dos alimentos e materiais tal como são percebidas pelos sentidos da visão, olfacto, paladar, tacto e audição (IFT, 1981). É a principal forma de avaliar a aceitação de um produto pela percepção humana, sendo que os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade nas indústrias de alimentos e bebidas (PINHEIRO, 2010).

Segundo Cardello e Faria (1998) e Yokota (2005), a qualidade sensorial da cachaça é ainda escassa e com as crescentes exigências do mercado há um aumento na preocupação com a qualidade da bebida e, um consumidor facilmente percebe quando duas bebidas são distintas simplesmente pela prova (MAGNANI, 2009).

Diante do exposto, verifica-se a importância do estudo da acidez na qualidade da bebida, outro parâmetro com base legal, devido exercer influência no seu sabor e aroma (BIZELLI et al., 2000). Além da acidez, a cor é uma das características a ser estudada, visto que influencia na preferência do consumidor.

Além da acidez, a cataia altera a cor, sabor e aroma. Quando utilizadas folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus*, a cor da cachaça torna-se semelhante ao uísque e o sabor lembra madeira com leve toque de cravo. Já quando se utilizam folhas de *Drimys brasiliensis*, a cor lembra uísque, porém mais claro e o sabor é característico de pimenta. Diante das dificuldades em se obter informações sobre a produção da cachaça de cataia, viu-se a necessidade do presente estudo, uma vez que se trata de uma bebida tradicionalmente conhecida no litoral do Paraná.

Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar o uso de folhas de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllos* (Gomes) Landrum para a produção de aguardente composta por infusão, caracterizando o efeito de fatores como proporção (vegetal:bebida) e tempo de infusão sobre o produto final, somado aos atributos sensoriais da cachaça.

8.2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado em duas etapas ou experimentos distintos, cada um deles avaliando diferentes variáveis do processo. No primeiro experimento foram estudados o material vegetal (a espécie, o processamento das folhas e a quantidade utilizada) e o tempo de infusão (extração). No segundo experimento foi avaliado o solvente; neste caso, o tipo de bebida e a graduação alcoólica, bem como o tempo de infusão ou contato entre as folhas e a bebida alcoólica.

8.2.1. Preparação das amostras

No primeiro experimento foram utilizadas folhas de cataia de duas espécies, *Pimenta pseudocaryophyllus* e *Drimys brasiliensis* e dois processamentos, com folhas verdes e com folhas secas. Para tanto, foram colhidas na Fazenda Experimental da Embrapa Florestas localizada em Colombo (PR), folhas sadias de *Drimys brasiliensis*, as quais foram lavadas (tratamento com folhas verdes) e uma parte colocada para secar em estufa, a temperatura de 30 °C (tratamento com folhas secas). Já as folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus*, foram cedidas pelas Produtoras de Cataia de Barra do Ararapira, produzidas e embaladas na área de proteção ambiental do Município de Guaraqueçaba, Litoral Norte do Estado do Paraná. Assim, três diferentes tratamentos surgiram, quanto ao material utilizado, conforme apresentado na Tabela 8.1.

A identificação das folhas de *Drimys brasiliensis* e *Pimenta pseudocaryophyllus* foi realizada no Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná, por professores da Área de Taxonomia Vegetal.

Além do tratamento espécie a ser utilizada, neste ensaio foi avaliada a quantidade de folhas colocadas em infusão, sendo usadas três concentrações, conforme descrito na Tabela 8.1. Cada tipo de material foi pesado nas quantidades estabelecidas e as folhas colocadas em garrafas de vidro com capacidade de 700 mL. As folhas, devidamente cortadas, foram então cobertas com cachaça não

envelhecida com 39% de álcool e colocadas em sala escura, à temperatura ambiente.

Foram coletadas amostras em diferentes tempos (Tabela 8.1), sendo que cada amostra coletada representava uma garrafa, sendo que no momento da coleta, as folhas eram removidas da solução, interrompendo o processo de extração.

O experimento foi implantado segundo um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 3x3x4 (3 tipos de folhas x 3 quantidades x 4 tempos).

Assim, combinando os fatores de variação obteve-se 36 tratamentos, os quais foram montados em duplicata totalizando 72 garrafas. As garrafas com as folhas foram preenchidas com 700 mL de cachaça não envelhecida com 39% de álcool, proveniente e cedida pela empresa Porto Morretes, sediada em Morretes (PR), e colocadas em sala escura, a temperatura ambiente.

Tabela 8.1 - Descrição do primeiro experimento usando folhas de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, Curitiba (PR), 2013.

Tratamentos	Descrição
M1	Folha seca litoral <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i>
M2	Folha seca Colombo <i>Drimys brasiliensis</i>
M3	Folha verde Colombo <i>Drimys brasiliensis</i>
Q1	1 g L ⁻¹
Q2	2 g L ⁻¹
Q3	4 g L ⁻¹
T1	30 dias
T2	60 dias
T3	90 dias
T4	120 dias

Para o segundo experimento foi padronizado o material (folhas de *Drimys brasiliensis* coletadas em Colombo (PR), secas em estufa a temperatura de 30 °C) e quantidade de folhas para infusão (concentração de 2 g L⁻¹). As folhas foram colocadas em infusão usando garrafas de vidro com capacidade de 700 mL, preenchidas com cada uma das soluções testadas e colocadas em sala escura, a temperatura ambiente. Foram empregadas três diferentes soluções ou solventes e preparadas garrafas para a tomada de amostra nos quatro tempos previstos: cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool (C1), proveniente e cedida pela

empresa Porto Morretes, Morretes (PR), cachaça não envelhecida com 39,0% de álcool (C2), proveniente e cedida pela empresa Porto Morretes, Morretes (PR), e aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool (C3), produto comercial Pirassununga 51 adquirido em empresa idônea (Tabela 8.2).

O experimento foi implantado segundo um delineamento inteiramente casualizado, com um arranjo fatorial 3x4 (3 tipos de cachaça x 4 tempos).

Assim, combinando os fatores de variação obteve-se 12 tratamentos, em duplicata totalizando 24 garrafas. As garrafas com as folhas foram preenchidas com 700 mL de cada uma das soluções testadas e colocadas em sala escura, a temperatura ambiente.

Tabela 8.2 - Descrição do segundo experimento usando folhas de *Drimys brasiliensis* Miers, Curitiba (PR), 2013.

Tratamentos	Descrição
C1	Cachaça não envelhecida, com 47,5% de álcool
C2	Cachaça não envelhecida, com 39,0% de álcool
C3	Aguardente de cana não envelhecida, com 39,0% de álcool
T1	30 dias
T2	60 dias
T3	90 dias
T4	120 dias

Foram coletadas alíquotas do produto de cada garrafa a cada 30 dias para a leitura de cor em espectrofotômetro e leitura de absorbância na faixa de 430nm (Figura 8.2). No momento da coleta destas alíquotas, as garrafas foram agitadas manualmente.

Ao final dos 120 dias foram coletados 25 ml de cada amostra e transferidos para um béquer de 500 ml contendo 200 ml de água destilada. Em seguida as amostras foram tituladas com solução de hidróxido de sódio 0,05 N até obter-se um pH de 8,2, com o uso de um pHmetro (Figura 8.3). Para o cálculo da acidez total (g/100 ml) multiplicou-se o equivalente grama do ácido acético (60) pelo volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação (ml) e pela normalidade da solução de hidróxido de sódio (0,05); em seguida o resultado foi dividido pelo volume da amostra (ml) multiplicado por 10 (BRASIL, 1986).

O produto obtido após o tempo de infusão de cada tratamento, chamado de "aguardente composta com cataia", foi mantido em local ventilado até serem coletadas todas as amostras e realizadas as avaliações sensoriais.

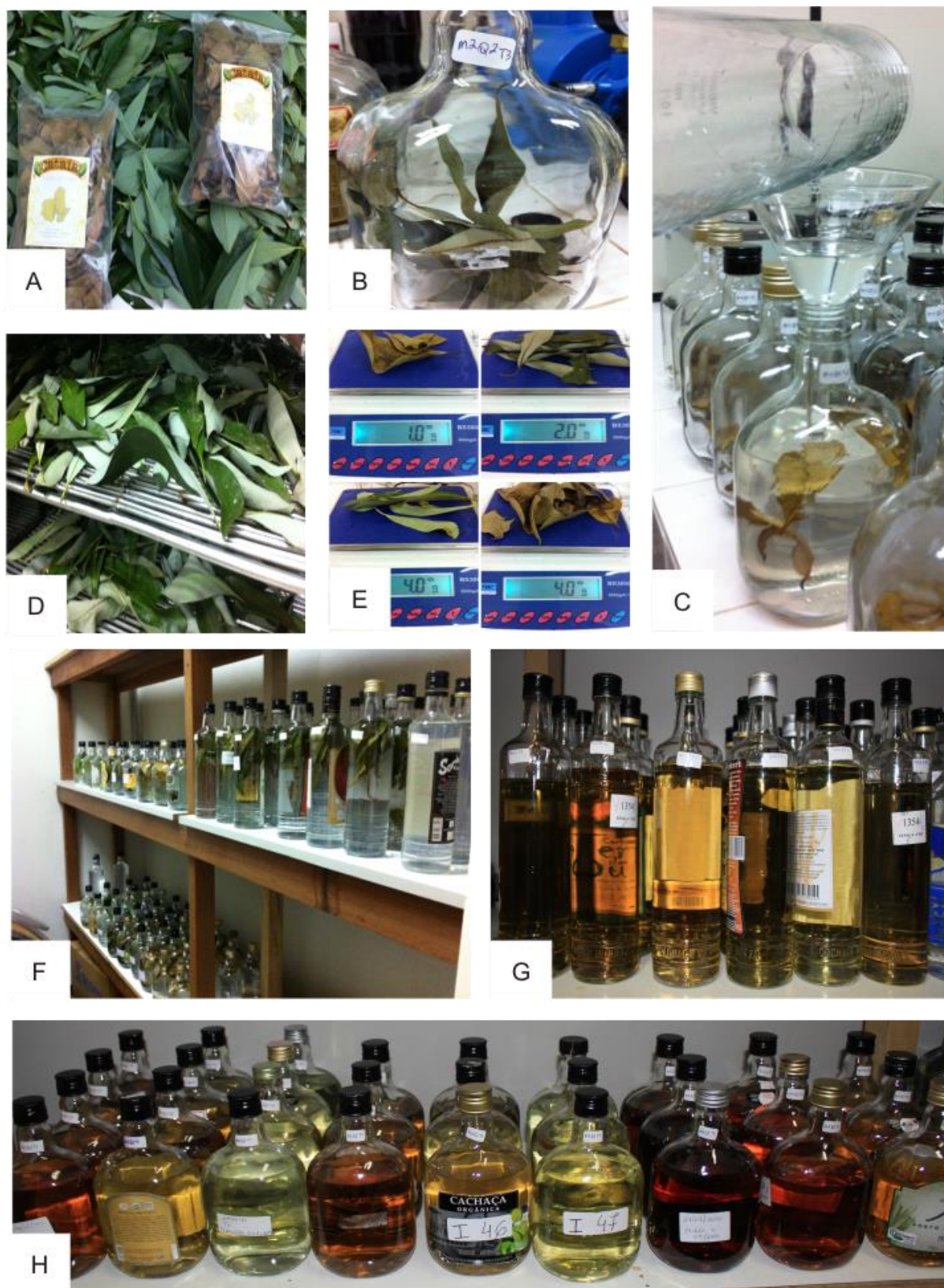


Figura 8.1 - Preparação das cachaças de *Drimys brasiliensis* e *Pimenta pseudocaryophyllus*: **A.** Amostras de folhas de *Drimys brasiliensis* e *Pimenta pseudocaryophyllus*. **B.** Garrafa com as folhas. **C.** Adição da cachaça nas garrafas contendo as folhas. **D.** Folhas verdes de *Drimys brasiliensis* dentro da estufa para secagem. **E.** Peso das folhas verdes e secas. **F.** Experimentos 1 e 2 recém instalados. **G.** Experimento 2 aos 120 dias após instalação. **H.** Experimento 1 aos 120 dias após instalação.

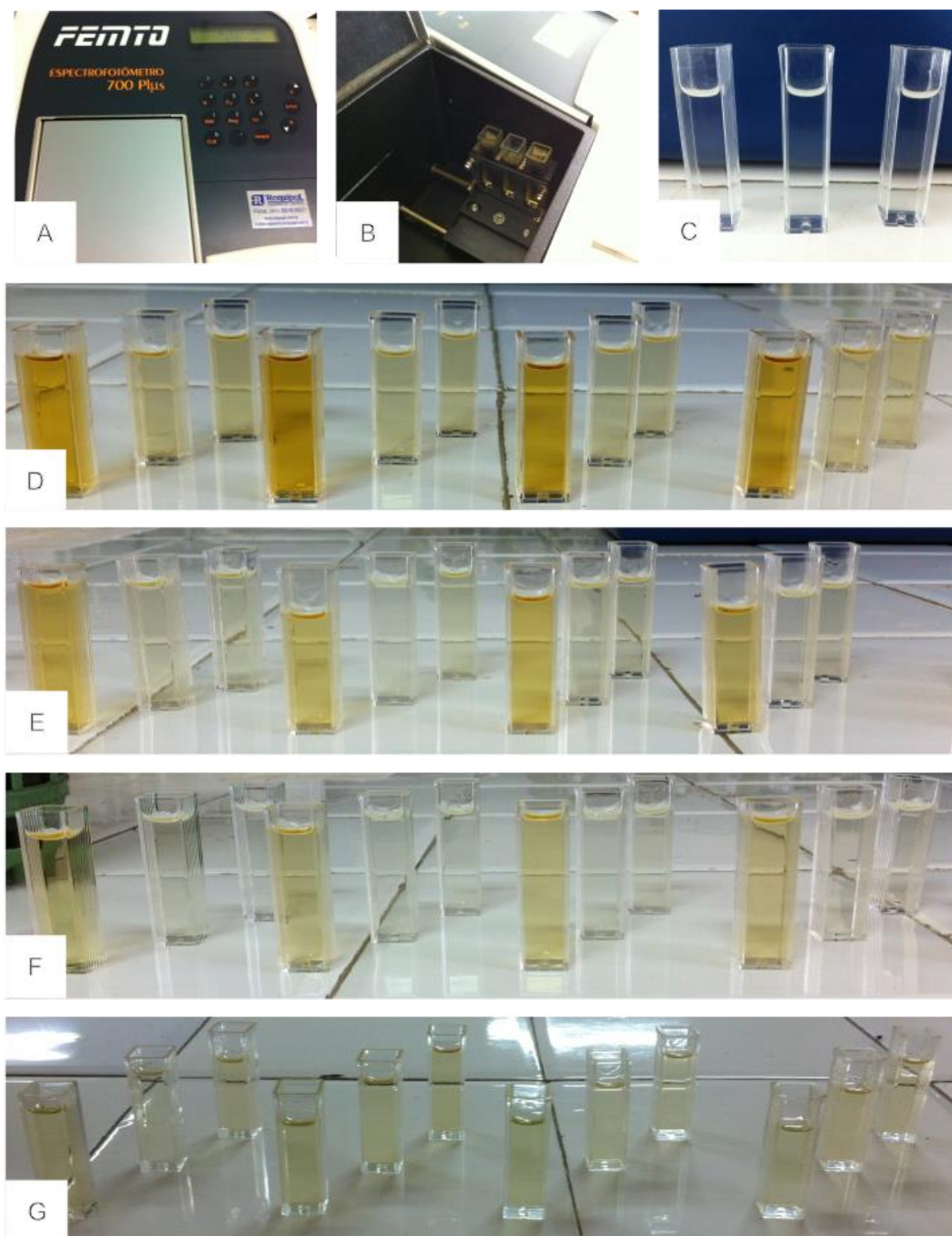


Figura 8.2 - Leitura de cor em absorbância das amostras: **A.** Espectrofotômetro. **B.** Amostras em triplicata no espectrofotômetro. **C.** Leitura de cor das amostras C1, C2 e C3. **D.** Leitura de cor das amostras de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* aos 120 dias. **E.** Leitura de cor das amostras de folhas secas de *Drimys brasiliensis* aos 120 dias. **F.** Leitura de cor das amostras de folhas verdes de *Drimys brasiliensis* aos 120 dias. **G.** Leitura de cor das amostras de cachaça não envelhecida com 47,5% e 39,0% de álcool e aguardente de cana, não envelhecida, com 39,0% de álcool de folhas secas de *Drimys brasiliensis* aos 120 dias.



Figura 8.3 - Leitura de acidez: **A.** pHmetro. **B.** Pipetar 25 ml da amostra. **C.** Amostras em béquer. **D.** Leitura de acidez com pHmetro e titulação com hidróxido de sódio a 0,05 N.

8.2.2. Análises sensoriais

Para a realização deste estudo experimental foi enviado ao comitê de ética em pesquisa (CEP/SD) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), na qual obteve-se parecer favorável, certificado pelo processo nº CAAE 13421613.9.0000.0102. As normas de conduta para ingestão de bebida alcoólica no ensino, pesquisa e extensão do CEP/SD, foram rigorosamente seguidas sob coordenação da responsável pela pesquisa.

Para a realização das análises sensoriais uma equipe julgadora definiu quais amostras seriam utilizadas para a análise devido ao grande número de amostras, o que acarretaria num elevado volume a ser ingerido pelos consumidores. Assim, foram definidas seis amostras para o primeiro experimento e seis para o segundo, conforme a Tabela 8.3.

Tabela 8.3 - Amostras escolhidas para a análise sensorial de infusão de cachaça com *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum do primeiro e segundo experimentos, Curitiba (PR), 2013.

Amostras	Descrição
M1Q1T4	1 g L ⁻¹ de folha seca de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> – 120 dias
M1Q2T4	2 g L ⁻¹ de folha seca de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> – 120 dias
M1Q3T4	4 g L ⁻¹ de folha seca de <i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> – 120 dias
M2Q1T4	1 g L ⁻¹ de folha seca de <i>Drimys brasiliensis</i> – 120 dias
M2Q2T4	2 g L ⁻¹ de folha seca de <i>Drimys brasiliensis</i> – 120 dias
M2Q3T4	4 g L ⁻¹ de folha seca de <i>Drimys brasiliensis</i> – 120 dias
M4C1T4	Cachaça não envelhecida, com 47,5% de álcool com 2 g L ⁻¹ de folha seca Colombo <i>Drimys brasiliensis</i> – 120 dias
M4C2T4	Cachaça não envelhecida, com 39,0% de álcool com 2 g L ⁻¹ de folha seca Colombo <i>Drimys brasiliensis</i> – 120 dias
M4C3T4	Aguardente de cana não envelhecida, com 39,0% de álcool com 2 g L ⁻¹ de folha seca Colombo <i>Drimys brasiliensis</i> – 120 dias
C1	Cachaça não envelhecida, com 47,5% de álcool (Testemunha)
C2	Cachaça não envelhecida, com 39,0% de álcool (Testemunha)
C3	Aguardente de cana não envelhecida, com 39,0% de álcool (Testemunha)

Os testes sensoriais afetivos foram conduzidos pela equipe do laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolas, departamento de Solos e Engenharia Agrícola, UFPR, Curitiba (PR), divididos em dois dias, sendo um para o primeiro experimento e o outro dia para o segundo experimento. Convites com as características da pesquisa, recomendações e cuidados de segurança (requisitos) aos participantes voluntários (julgadores) foram colocados em edital, na Universidade Federal do Paraná, juntamente com as informações sobre datas e local para as avaliações sensoriais.

Estas avaliações foram conduzidas individualmente e as amostras foram servidas a temperatura ambiente, em taças plásticas descartáveis, codificadas com

três dígitos (Figura 8.4). Junto com as amostras foi servida água mineral a fim de eliminar o sabor residual entre os testes de uma amostra e outra.

Antes de cada julgamento foi feita uma preleção para o julgador sobre os objetivos do trabalho e os cuidados necessários no consumo de bebidas alcoólicas. Em seguida cada convidado assinou um termo de consentimento livre e esclarecido, ou seja, termo de responsabilidade, o qual informava todos os procedimentos e requisitos da análise sensorial. Em seguida o julgador pôde avaliar as amostras.

Diante do volume de tratamentos realizados, cada convidado recebeu apenas seis amostras, ou seja, avaliou apenas seis tratamentos do total realizado nos experimentos, onde cada amostra recebida tinha apenas 5 ml de bebida (Figura 8.4). Foi orientado aos mesmos para não consumirem todo o volume. Todas as amostras, num total de seis, foram apresentadas de uma única vez, numa bandeja, a fim de poder ser realizada uma análise comparativa. As fichas foram preenchidas de acordo com a preferência dos atributos em questão.

A avaliação dos testes de preferência foi realizada a partir da expressão da opinião em uma Escala Hedônica. Esta foi usada para avaliar o nível de preferência ou aceitação das amostras (Figura 8.5).



Figura 8.4 - Análise Sensorial: **A.** Amostras dentro das taças plásticas. **B.** Taças plásticas devidamente codificadas. **C.** Taças plásticas contendo 6 amostras por bandeja prontas para serem analisadas. **D.** Montagem da bancada com a bandeja, escala hedônica e termo de consentimento. **E.** Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. **F.** Análise sensorial.

NOME: _____ DATA: _____ BANDEJA Nº: _____

Avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra.

	Amostra (código do copinho)	Valor (nota)
7 - Gostei muitíssimo		
6 - Gostei muito		
5 - Gostei		
4 - Não gostei/ nem desgostei		
3 - Desgostei		
2 - Desgostei muito		
1 - Desgostei muitíssimo		

Figura 8.5 - Modelo da escala hedônica para realização da análise sensorial.

8.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.3.1. Leitura de Acidez - 1º Experimento

Para as variáveis analisadas, tipos de folhas e tempos de infusão não houve interação entre os fatores analisados, demonstrando que estes são independentes. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para quantidade de folhas e interação tripla entre os fatores analisados (Tabela 8.4).

Na Tabela 8.4 é possível observar que a variável quantidade de folhas exerce influência na acidez da cachaça, uma vez que apresenta diferença significativa nos fatores analisados. Com isso, a acidez da cachaça pode ser influenciada pela quantidade de folhas na infusão da cachaça, explicando, portanto os resultados do presente experimento, não havendo necessidade de apresentar assim as tabelas de interação.

Tabela 8.4 - Resultados da análise de variância de leitura de acidez para as variáveis: tipos de folhas (M), quantidade de folhas (Q) e tempo de infusão (T) com a infusão de folhas de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum em cachaça não envelhecida com 39% de álcool, Curitiba (PR), 2013.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Tipos de Folhas	2	0,00015 ^{ns}
Quantidade de Folhas	2	0,00421 ^{**}
Tempos	3	0,00010 ^{ns}
Tipos de Folhas x Quantidade	4	0,00021 ^{ns}
Tipos de Folhas x Tempo	6	0,00018 ^{ns}
Quantidade x Tempo	6	0,00006 ^{**}
Tipos de Folhas x Quantidade x Tempo	12	0,00003 ^{**}
Tratamentos	35	0,00033 ^{ns}
Erro	36	0,00059
Total	71	
Coeficiente de Variação (%)		14,47
Teste de Bartlett (X²)		26,94 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

No experimento realizado houve diferença significativa quando se comparou a quantidade de folhas. A quantidade de 4 g L⁻¹ foi a que apresentou maior acidez seguida por 2 g L⁻¹, sendo a quantidade de 1 g L⁻¹ a de menor acidez (Tabela 8.5). De acordo com Lima (2001), o grau de acidez das cachaças constitui fator de qualidade pois, durante sua produção, os ácidos reagem com os álcoois presentes e contribuem para a formação de ésteres. Estes ésteres são importantes para o aroma, mas a acidez em excesso promove sabor indesejado e agressivo, reduzindo a qualidade da bebida (JERONIMO et al., 2008).

Tabela 8.5 - Comparação de médias das variáveis: quantidades de folhas de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum: 1 g L⁻¹ (Q1), 2 g L⁻¹ (Q2) e 4 g L⁻¹ (Q3), com a infusão de folhas em cachaça não envelhecida com 39% de álcool, para a leitura de acidez, Curitiba (PR), 2013.

Quantidade de Folhas	g 100 ml ⁻¹
Q1	0,15400 c
Q2	0,16750 b
Q3	0,18050 a
Coefficiente de Variação (%)	14,47

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

8.3.2. Leitura de Acidez - 2º Experimento

Para as variáveis analisadas, tipos de cachaça e tempo de infusão, houve interação entre os fatores analisados, demonstrando que estes são dependentes. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para tipos de cachaça (Tabela 8.6).

Tabela 8.6 - Resultados da análise de variância de leitura de acidez para as variáveis: quantidade de folhas (Q) e tempo de infusão (T) com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers em cachaça não envelhecida com 47,5% e 39% de álcool e aguardente de cana não envelhecida com 39% de álcool, Curitiba (PR), 2013.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
		M Q T
Tipos de Cachaça	2	0,02715**
Tempos	3	0,00020 ^{ns}
Tipos de Cachaça x Tempo	6	0,00001**
Tratamentos	11	0,00500**
Erro	12	0,00056
Total	23	
Coefficiente de Variação (%)		15,20
Teste de Bartlett (X²)		5,18 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

Para as cachaças não envelhecidas com 47,5% e 39,0% de álcool e aguardente de cana com 39,0% de álcool, não houve diferença significativa quando relacionadas com o tempo de infusão (Tabela 8.7).

Ao analisar os tipos de cachaça, nota-se que para os tempos 1, 2, 3 e 4 (30, 60, 90 e 120 dias, respectivamente), a aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool (C3) foi a que apresentou menor acidez. Já a cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool (C1) e 39,0% de álcool (C2) foram as mais ácidas em todos os tempos analisados, não havendo diferença significativa entre si (Tabela 8.7).

Tabela 8.7 - Comparação de médias das variáveis tipos de cachaça (C1, C2 e C3) e tempo de infusão (T1, T2, T3 e T4) com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers, para a leitura de acidez, Curitiba (PR), 2013.

Tipos de Cachaças	Tempo de Infusão			
	T1	T2	T3	T4
	Acidez g 100 ml ⁻¹			
C1	0,1920 aA	0,2040 aA	0,2040 aA	0,2100 aA
C2	0,1680 aA	0,1740 aA	0,1680 aA	0,1800 aA
C3	0,0840 bA	0,0900 bA	0,0900 bA	0,0960 bA
Coefficiente de Variação (%)	15,20			

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

C1T1: Cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool em 30 dias de infusão

C1T2: Cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool em 60 dias de infusão

C1T3: Cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool em 90 dias de infusão

C1T4: Cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool em 120 dias de infusão

C2T1: Cachaça não envelhecida com 39% de álcool em 30 dias de infusão

C2T2: Cachaça não envelhecida com 39% de álcool em 60 dias de infusão

C2T3: Cachaça não envelhecida com 39% de álcool em 90 dias de infusão

C2T4: Cachaça não envelhecida com 39% de álcool em 120 dias de infusão

C3T1: Aguardente de cana não envelhecida com 39% de álcool em 30 dias de infusão

C3T2: Aguardente de cana não envelhecida com 39% de álcool em 60 dias de infusão

C3T3: Aguardente de cana não envelhecida com 39% de álcool em 90 dias de infusão

C3T4: Aguardente de cana não envelhecida com 39% de álcool em 120 dias de infusão

8.3.3. Leitura de Cor - 1º Experimento

Para as variáveis analisadas, tipos de folhas e quantidades de folhas houve interação entre os fatores analisados, demonstrando que estes são independentes. Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para os tipos de folhas e quantidade de folhas (Tabela 8.8).

Tabela 8.8 - Resultados da análise de variância para as variáveis: tipos de folhas (M), quantidade de folhas (Q) e tempo de infusão (T) em cachaça não envelhecida com 39% de álcool com a infusão de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum e folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* Miers, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Tipos de Folhas	2	1,09681 ^{**}
Quantidade de Folhas	2	0,67371 ^{**}
Tempos	3	0,00067 ^{ns}
Tipos de Folhas x Quantidade	4	0,13864 ^{**}
Tipos de Folhas x Tempo	6	0,00093 ^{ns}
Quantidade x Tempo	6	0,00108 ^{ns}
Tipos de Folhas x Quantidade x Tempo	12	0,00086 ^{ns}
Tratamentos	35	0,11771 ^{**}
Erro	36	0,00139
Total	71	
Coeficiente de Variação (%)		16,17
Teste de Bartlett (X²)		29,03 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

Tabela 8.9 - Comparação de médias das variáveis: tipos de folhas (M1, M2 e M3) e quantidade de folhas (Q1, Q2, e Q3) com a infusão de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum e folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* Miers em cachaça não envelhecida com 39% de álcool, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.

Tipos de Folhas	Quantidade de Folhas		
	Q1	Q2	Q3
M1	0,1990 aC	0,4079 aB	0,8263 aA
M2	0,0275 bC	0,0803 bB	0,2023 bA
M3	0,0264 bC	0,0968 bB	0,2120 bA
Coeficiente de Variação (%)		16,17	

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

A quantidade de 4 g L⁻¹ de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* e de folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* foram as que mostraram maior coloração das cachaças quando comparada com as quantidades de 2 g L⁻¹ e 1 g L⁻¹,

sendo esta última a que menos corou a cachaça (Tabela 8.9). Isto está relacionada à maior quantidade de folhas em contato com a bebida o que provoca o aumento na coloração da mesma.

A variação de cor durante o tempo de infusão apresenta comportamento crescente, ou seja, quanto maior o tempo de infusão das folhas na cachaça, mais corada esta ficará. Assim, foi apresentada apenas à tabela de leitura de cor aos 120 dias, pois foi a que apresentou maior tonalidade quando comparada com as demais leituras. Isto está relacionado à maior quantidade de folhas em contato com a bebida, o que provoca o aumento na coloração da mesma.

Durante o envelhecimento, a cachaça passa por inúmeras transformações, dentre elas a incorporação de componentes solúveis extraídos da folha e a decomposição parcial de macromoléculas em monômeros solúveis, como aldeídos e ácidos fenólicos, que são incorporados à cachaça. Todas estas transformações provocam o aumento progressivo da coloração e viscosidade (MAIA; CAMPELO, 2005).

8.3.4. Leitura de Cor - 2º Experimento

Para as variáveis analisadas, tipo de cachaça e tempo de infusão não houve interação entre os fatores, demonstrando que estes são independentes. Para a variável tipo de cachaça houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 8.10).

Tabela 8.10 - Resultados da análise de variância para as variáveis: tipo de cachaça (C) e tempo de infusão (T) de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers em cachaça não envelhecida com 47,5% e 39% de álcool e aguardente de cana com 39% de álcool, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Tipos de Cachaça	2	0,00515*
Tempo de Infusão	3	0,00011 ^{ns}
Tipos de Cachaça x Tempo	6	0,00041 ^{ns}
Tratamentos	11	0,00119 ^{ns}
Erro	12	0,00097
Total	23	
Coefficiente de Variação (%)		23,11
Teste de Bartlett (X²)		15,34 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

Houve um aumento crescente na cor da bebida conforme aumentavam os dias da leitura, mostrando que a leitura aos 120 dias apresentou maior coloração na cachaça, por isso não houve a necessidade de apresentar as demais tabelas de leitura.

A cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool foi a que apresentou maior coloração diferindo estatisticamente apenas da cachaça não envelhecida com 39,0% de álcool (Tabela 8.11).

Tabela 8.11 - Comparação de médias das variáveis: tipos de cachaça (C1, C2 e C3) com a infusão de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers, para a leitura de cor aos 120 dias, Curitiba (PR), 2013.

Tipos de Cachaça	nm
C1	0,15879 a
C2	0,10821 b
C3	0,13696 ab
Coefficiente de Variação (%)	23,44

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

8.3.5. Análise Sensorial - 1º Experimento

Para a variável analisada amostras de cachaça com a infusão de folhas de verdes e secas de *Drimys brasiliensis* Miers e de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 8.12).

Tabela 8.12 - Resultados da análise de variância para as seis amostras analisadas de cachaça não envelhecida com a infusão de folhas de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, Curitiba (PR), 2013.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Amostras	5	11,94**
Resíduo	420	1,78
Total	425	
Coeficiente de Variação (%)		29,37
Teste de Bartlett (X²)		2,87 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

Na análise sensorial realizada, as amostras com a infusão de folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (M1Q1T4, M1Q2T4 e M1Q3T4) não diferiram significativamente entre si bem como as amostras com a infusão de folhas de *Drimys brasiliensis* (M2Q1T4, M2Q2T4 e M2Q3T4) que também não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 8.13).

A cachaça com o uso de 4 g L⁻¹ de folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus* foi a que apresentou melhor aceitação pelo consumidor quando comparada com as demais amostras julgadas (Tabela 8.13). E a cachaça com a infusão de folhas secas de *Drimys brasiliensis* na mesma quantidade de 4 g L⁻¹, foi a única que se diferenciou estatisticamente da cachaça com a infusão de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus*, sendo ainda a cachaça que o consumidor menos gostou quando comparada com as demais.

Tabela 8.13 - Comparação de médias das variáveis de seis amostras de cachaça não envelhecida com a infusão de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum com 1 g L⁻¹ (M1Q1T4), folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum com 2 g L⁻¹ (M1Q2T4), folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum com 4 g L⁻¹ (M1Q3T4), folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers com 1 g L⁻¹ (M2Q1T4), folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers com 2 g L⁻¹ (M2Q2T4), folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers com 4 g L⁻¹ (M2Q3T4), Curitiba (PR), 2013.

Amostras	Nota
M1Q1T4	4,64 ab
M1Q2T4	4,92 ab
M1Q3T4	5,07 a
M2Q1T4	4,29 bc
M2Q2T4	4,36 bc
M2Q3T4	3,98 c
Coefficiente de Variação (%)	29,37

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

8.3.6. Análise Sensorial - 2º Experimento

Para a variável analisada amostras com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* e as amostras sem a infusão de folhas de *Drimys brasiliensis* em diferentes tipos de cachaça, houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 8.14).

Tabela 8.14 - Resultados da análise de variância para as seis amostras analisadas de diferentes teores alcóolicos de cachaça não envelhecida com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers, Curitiba (PR), 2013.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Amostras	5	4,90*
Resíduo	402	2,10
Total	407	
Coefficiente de Variação (%)		33,31
Teste de Bartlett (X²)		3,12 ^{ns}

ns = não significativo a 5%; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%

A análise de variância indicou que o fator amostras mostrou efeito significativo (Tabela 8.14), porém o teste de Tukey não mostrou diferença entre as médias (Tabela 8.15). Isso ocorre devido o teste apresentar maior rigidez com relação a outros testes de comparação de médias.

Na análise sensorial realizada, todas as amostras analisadas não diferiram estatisticamente entre si, mostrando que todas foram igualmente aceitas pelo consumidor (Tabela 8.15).

Tabela 8.15 - Comparação de médias das variáveis de seis amostras com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers: cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool (M4C1T4), cachaça não envelhecida com 39,0% de álcool (M4C2T4), aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool (M4C3T4), cachaça não envelhecida com 47,5% de álcool sem a infusão de folhas (C1), cachaça não envelhecida com 39,0% de álcool sem a infusão de folhas (C2), aguardente de cana não envelhecida com 39,0% de álcool sem a infusão de folhas (C3), Curitiba (PR), 2013.

Amostras	Nota
M4C1T4	4,14 a
M4C2T4	4,19 a
M4C3T4	4,41 a
C1	4,11 a
C2	4,42 a
C3	3,82 a
Coefficiente de Variação (%)	33,31

Médias seguidas de mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Os resultados da análise sensorial do primeiro e segundo experimento não interferem na qualidade da bebida, no entanto fazem com que tenha uma maior aceitação pelo mercado devido seu grau de aceitação pelo consumidor final.

8.4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento com o uso de folhas de *Drimys brasiliensis* Miers e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum para a produção de aguardente composta, pode-se concluir que:

- A cachaça com 4 g L⁻¹ de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum e folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* Miers e a cachaça não envelhecida com 47,5% e 39,0% de álcool com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers apresentaram maior acidez.
- Quanto maior o tempo de infusão de 4 g L⁻¹ de folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* Miers e folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum na cachaça, maior a sua coloração.
- A cachaça com 4 g L⁻¹ de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum foi a melhor aceita pelo consumidor;
- As cachaças com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers em diferentes teores alcoólicos de cachaça não envelhecida e aguardente de cana foram igualmente aceitas pelo consumidor.

REFERÊNCIAS

BARROS, F.; MELO, M. M. R. F.; CHIEA, S. A. C.; KIRIZAWA, M.; WANDERLEY, M. G. L.; JUNG-MENDONÇALLI, S. L. **Flora fanerogâmica da Ilha do Cardoso**: caracterização geral da vegetação e listagem das espécies ocorrentes. São Paulo: Instituto de Botânica, 1991. 184 p.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 1. ed. São Paulo: EDUSP, 1978. 255 p.

BIZELLI, L. C.; RIBEIRO, C. A. F.; NOVAES, F. V. Dupla destilação da aguardente de cana: teores de acidez total e de cobre. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 4, p. 623-627, 2000.

BRANDÃO, M. **Árvores nativas do estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002.

BRASIL, Portaria n. 76 de 26 de novembro de 1986. **Diário oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 de nov. 1986. Seção 1, pt. 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 13, de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 de junho de 2005. p. 3.

BRASIL, Decreto n. 6871 de 04 de junho de 2009. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 04 de junho de 2009. Art 72.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise descritiva quantitativa da aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 169-175, 1998.

FLORA DE SÃO BENTO DO SUL - FLORA SBS. **Winteraceae: Casca-de-anta - Drimys Brasiliensis**. São Bento do Sul, 2011, Disponível em:

<<http://sites.google.com/site/orasbs/winteraceae/casca-de-anta>>. Acesso em: 01/10/2011.

FRANÇA, G. S.; STEHMANN, J. R. Composição florística e estrutura do componente arbóreo de uma floresta altimontana no município de Camanducaia, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 19-30, 2004.

GIRARD, E. A. **Volume, biomassa e rendimento de óleos essenciais do craveiro (*Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum) em floresta Ombrófila mista.** 72 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

IFT. Sensory evaluation guide for testing food and beverage products. **Institute of Food Technology**, Chicago, v. 35, n. 11, p. 50-59, 1981.

JERONIMO, E. M.; OLIVEIRA, E. S.; SOUZA, E. L. R.; SILVA, M. A.; SERRA, G. E. Addition of proteic nitrogen during alcoholic fermentation for the production of cachaça. **Scienc Agricultural**, v. 65, n. 2, p. 161-168, 2008.

KOEHLER, A.; GALVÃO, F.; LONGHI, S. J. Floresta Ombrófila Densa Altomontana: aspectos florísticos e estruturais de diferentes trechos da Serra do Mar. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 2, p. 27-39, 2002.

LIMA, U. A. **Biotecnologia:** biotecnologia na produção de alimentos. São Paulo: Edgard Blücher, p. 145-207, 2001.

LONGHI, R. A. **Livro das árvores e arvoretas do sul.** Porto Alegre: L & PM, 1995. 176 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

MAGNANI, B. D. **Estudo comparativo das características sensoriais do rum e da cachaça.** 89 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Setor de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

MAIA, A. B. R. A; CAMPELO, E. A. P. **Tecnologia da cachaça de Alambique.** SEBRAE/MG: SINBEBIDAS, 2005.

PINHEIRO, S. H. M. **Avaliação sensorial das bebidas aguardente de cana industrial e cachaça de alambique.** Minas Gerais: Viçosa, 2010.

SCHULTZ, R. A. **Os nomes científicos e populares das plantas do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: PUC, 1975. 164 p.

SOBRAL, M. **A Família Myrtaceae no Rio Grande do Sul.** São Leopoldo: Editora da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 2003. 215 p.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense.** Itajaí: BR Petrobras, 1997. 19 p.

YOKOTA, S. R. C. **Avaliação sensorial descritiva de cachaça nova e envelhecida por 18 ou 24 meses em barris de madeira por equipes com diferentes números de julgadores treinados.** 125 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Setor de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

9. CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que foram desenvolvidos os experimentos com *Drimys brasiliensis* Miers, é possível concluir que:

A aplicação de IBA não otimizou o enraizamento de estacas caulinares semilenhosas provenientes de brotação do ano com a presença e ausência de folhas, no outono, sendo que o melhor enraizamento foi obtido quando da presença de duas folhas (51,07%).

Estacas provenientes de brotação do ano coletadas nas quatro estações do ano mostraram-se mais viáveis ao enraizamento quando coletadas no inverno (46,96%) e a aplicação de IBA não influenciou na iniciação radicial em qualquer época do ano.

O uso de estacas herbáceas é o mais indicado para o sucesso do enraizamento no verão (32,67%) quando comparado com estacas semilenhosas, não havendo a necessidade de aplicação de IBA. No entanto não é viável a produção de mudas com o uso de estacas herbáceas e semilenhosas no verão devido a alta mortalidade correlacionada a baixa porcentagem de enraizamento.

Miniestacas não são indicadas para o sucesso do enraizamento.

Ao analisar a propagação vegetativa da espécie, recomenda-se ao produtor o uso da estaquia semilenhosa no inverno mantendo duas folhas na porção apical reduzidas a metade ou a estaquia no outono mantendo duas folhas na porção apical, para uma maior porcentagem de enraizamento e melhor desenvolvimento radicial. No entanto, são necessários mais estudos na área, pois se fosse realizado o mesmo experimento em estacas semilenhosas com a presença de duas folhas bem como o estudo da estaquia herbácea nas demais estações do ano, possivelmente maiores porcentagens de enraizamento poderiam ser encontradas.

A extração do óleo essencial mostrou uma predominância de sesquiterpenos nos materiais fresco e seco, sendo que os principais constituintes do material fresco foram germacreno D, biciclogermacreno, epi-alfa-cadinol, alfa-cadinol e drimenol. Já os principais constituintes do material seco foram germacreno D, (E)-nerodidol, espatulenol, epi-alfa-cadinol, alfa-cadinol e drimenol. A composição do óleo essencial indica que a espécie possivelmente pode possuir

algumas atividades antifúngica, antibacteriana, insetífuga, farmacológica e moluscocida.

O estudo do óleo essencial em folhas de *Drimys brasiliensis* mostra que existe uma diferença na composição e quantidade dos compostos nos diferentes materiais analisados. A continuidade deste trabalho poderia verificar se esses metabólitos secundários sofrem alteração nas diferentes épocas do ano, bem como se existe correlação entre a presença desses compostos e o sucesso da rizogênese.

A cachaça com 4 g L⁻¹ de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum e folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* Miers apresentaram maior acidez juntamente com a cachaça não envelhecida com 47,5% e 39,0% de álcool com a infusão de 2 g L⁻¹ de folhas secas de *Drimys brasiliensis* Miers. Quanto maior o tempo de infusão das folhas secas e verdes de *Drimys brasiliensis* e folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* na cachaça, maior sua coloração. A cachaça com 4 g L⁻¹ de folhas secas de *Pimenta pseudocaryophyllus* foi melhor aceita pelo consumidor quando comparada às demais e, os diferentes teores alcóolicos de cachaça com e sem a infusão de folhas secas de *Drimys brasiliensis* foram igualmente aceitos pelo consumidor.

Diante do experimento com aguardente composta por infusão é evidente a necessidade de maiores estudos, a fim de correlacionar quais componentes da folha, tanto de *Drimys brasiliensis* como de *Pimenta pseudocaryophyllus* estariam influenciando no sabor da bebida, tornando-a mais saborosa ao consumidor.

REFERÊNCIAS

ABREU, D. C. A.; KUNIYOSHI, Y. S.; SOUZA MEDEIROS, A. C.; NOGUEIRA, A. C. Caracterização morfológica de frutos e sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers - Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 67-74, 2005.

ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.

ALVES, T. M. A.; RIBEIRO, F. L.; KLOOS, H.; ZANI, C. L. Polygodial, the fungitoxic component from the Brazilian Medicinal plant *Polygonum punctatum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 831-833, 2001.

ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G. Propagação vegetativa de porta-enxertos para citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 131-136, 2003.

ANDRE, E.; MALHEIROS, A.; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Mechanisms underlying the relaxation caused by the sesquiterpene polygodial in vessels from rabbit and guinea-pig. **European Journal Pharmacology**, Amsterdão, v. 386, n. 1, p. 47-53, 1999.

ARANDA, G.; CORTE'S, M.; MAURS, M.; AZERAD, R. Microbiologically-assisted hemisynthesis of 1-alpha-hydroxydrimenol. **Tetrahedron Asymmetry**, Keystone, v. 12, n. 14, p. 2013-2018, 2001.

AWAD, M.; CASTRO, P. R. C. **Introdução à fisiologia vegetal**. São Paulo: Nobel, 1983. 177 p.

BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul**: guia de identificação e interesse ecológico - as principais espécies nativas sul-brasileiras. Rio de Janeiro: Instituto Souza Cruz, 2002. 325 p.

BACKES, A.; NARDINO, M. **Árvores, arbustos e algumas lianas nativas no Rio Grande do Sul**. 2 ed. São Leopoldo: Ed. da UNISINOS, 1998.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. São Paulo: EDUSP, v. 1, 1978. 255 p.

BERENBAUM, M. R.; ZANGERL, B. **Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites**. New York: Editora Academic Press, 1992. 415 p.

BERGESTRÖM, G. **Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids**. Oxford: Editora Claredon Press, 1991. 287 p.

BHAVANANI, S. M.; BALLOW, C. H. New agents for Gram-positive bacteria. **Current Opinion in Microbiology**, Salt Lake, v. 3, n. 5, p. 528-534, 1992.

BIASI, L. A. Reguladores de crescimento vegetal. In: WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. **Fisiologia Vegetal: produção e pós-colheita**. Curitiba: Editora Champagnat, 2002. 424 p.

BOLIANI, A. C.; SAMPAIO, V. R. Efeitos do estiolamento basal e do uso do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas de nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindley). **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v. 7, n. 1, p. 51-63, 1998.

BRANDÃO, M.; GAVILANES, M. L. Mais uma contribuição para o conhecimento da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais (Serra da Piedade). **II. Daphne**, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 26-43, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto no 73267, de 6 de dezembro de 1973. **Diário Oficial da União de 07/12/1973**, Brasília, Seção 1, p. 12555, 1973.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto no 2.314 de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, v. 171, p. 19.556, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 13, de 29 de junho de 2005. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 de junho de 2005. p. 3.

BROWN, G. D. Drimendiol, a sesquiterpene from *Drymis winterii*. **Phytochemistry**, Keystone, v. 35, n. 4, p. 975-977, 1994.

CASTRO, P. R. C. Ação auxínica. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 67, n. 2, p. 21-33, 1992.

CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; SOUSA, V. A. **Estaquia de corticeira do banhado (*Erythrina crista-galli* L.)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. 6 p. Comunicado Técnico, 64.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. 3. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008.

CAVALHEIRO, R. C. R. O tratamento jurídico e econômico aos medicamentos fitoterápicos no Brasil e na Comunidade Européia. **Pensamento e Realidade**, v. 1, n. 19, p. 119-132, 2006.

CECHINEL-FILHO, V.; SCHLEMPER, V.; SANTOS, A. R. S.; PINHEIRO, T. R.; YUNES, R. A.; MENDES, G. L.; CALIXTO, J. B.; MONACHE, F. D. Isolation and identification of active compounds from *Drimys winteri* barks. **Journal of Ethnopharmacology**, Philadelphia, v. 62, n. 3, p. 223-227, 1998.

COMERCIO EXTERIOR. Um brinde com a cachaça brasileira: Salud! Saúde! Salute! Cheers! Kampa! Prosit. **INFORME BB**, Brasília, 2000. 112 p.

CRUZ, B. P. **Comparação da anatomia foliar e dos óleos essenciais de *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) em uma floresta ombrófila densa altomontana**. 87 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Botânica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

EDMOND, J. B.; SENN, T. L.; ANDREWS, F. S.; HALFACRE, R. G. **Fundamentals of horticulture**. 4. ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1957.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas**. Pelotas: UFPEL, 1994. 179 p.

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

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. Propagação de plantas frutíferas. **Embrapa Informações Tecnológicas**, Brasília, 2005. 221 p.

FALKENBERG, D. B.; VOLTOLINI, J. C. The montane cloud forest in Southern Brazil. In:____. Tropical montane cloud forest. Springer-Verlag, New York, p. 138-149, 1995.

FANTI, F. P. **Aplicação de Extratos de Folhas e Tubérculos de *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) e de Auxinas Sintéticas na Estaquia Caulinar de *Duranta repens* L. (Verbenaceae)**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. Propagação vegetativa de espécies florestais. **Documentos 94**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 22 p. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/doc94.pdf>>. Acesso em: 10/09/2013.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; BOEGER, M. R. T.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 11-16, 2001.

FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) com uso de ácido indol butírico**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FERRI, C. P. Enraizamento de estacas de citrus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n. 1, p. 113-121, 1997.

FLORA DE SÃO BENTO DO SUL - FLORA SBS. **Winteraceae: Casca-de-anta - *Drimys Brasiliensis***. São Bento do Sul, 2011, Disponível em: <<http://sites.google.com/site/orasbs/winteraceae/casca-de-anta>>. Acesso em: 01/10/2011.

GOMES, M. R. F.; SCHUH, R. S.; JACQUES, A. L. B.; DORNELES, G. G.; MONTANHA, J.; ROEHE, P. M.; BORDIGNON, S.; DALLEGRAVE, E.; LEAL, M. B.; LIMBERGER, R. P. Biological assessment (antiviral and antioxidante) and acute toxicity of essencial oils from *Drimys angustifolia* and *D. brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 284-290, 2013.

GOTTSBERGER, G.; SILBERBAER-GOTTSBERGER, I.; EHRENDORFER, F. Reproductive Biology in the Primitive Relic Angiosperm *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). **Plant Systematics and Evolution**, Philadelphia, v. 135, n. 1, p. 11-39, 1980.

GUIA OFICIAL DA CACHAÇA. Cachaça e Brasil: Uma história de Amor. **Anuário**, Brasil, 2005. 122 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

ISHIKAWA, H.; SUZUKI, Y.; SAKAI, A.; ISHIKUZA, S. LOTTE CO. LTD; TOYOTAMA PERFUMERY CO LTD **Sesquiterpene: sensory properties of essencial oils**. United States, Patent US 5523105, 1997.

JANSEN, B. J. M.; GROOT, A. D. The occurrence and biological activity of drimane sesquiterpenoids. **Natural Product Reports**, London, v. 8, n. 3, p. 309-318, 1991.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 10 ed. São Paulo: Editora Nacional, 1991. 777 p.

JONES, C. G.; FIRN, R. D. On the evaluation of plant secondary chemical diversity. **Transaction of the Royal Society of London**, United Kingdom, Series B, p. 333:273, 1991.

KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. 2. ed. Guaíba: Agrolivros, 2005. 256 p.

KERKETTA, J. K.; PANDEY, O. N. Effect of PGRs on the rooting behaviour of stem cuttings of *Derris indica* Bennet and *Gmelina arborea* Roxb. **Journal of Research, Bau**, v. 14, n. 1, p. 149-151, 2002.

KUBO, I.; FUJI K.; LEE, S. L. Antifungal mechanism of polygodial. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 3, p. 1607-1611, 2001.

LANGENHEIM, J. H. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. **Journal Chemistry in Ecoology**, New York, v. 20, n. 6, p. 1223-1282, 1994.

LIMA, U. A. **Aguardente. Fabricação em pequenas destilarias**. Piracicaba: Fundação Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, 1999. 187 p.

LIMA, D. M.; ALCANTARA, G. B.; 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 Agrária**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

LIMBERGER, R. P.; SCOPEL, M.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Comparative analysis of volatiles from *Drimys brasiliensis* Miers and *D. angustifolia* Miers (Winteraceae) from Southern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, Keystone, v. 35, n. 3, p. 130-137, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

MALHEIROS, A. **Estudos químicos farmacológicos e alelopáticos das espécies *Drimys angustifolia* e *Drimys brasiliensis* (Winteraceae)**. 184 f. Tese (Doutorado em Química) - Setor de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

MALHEIROS, A.; CECHINEL-FILHO, V.; SCHMITT, C. B.; YUNES, R. A.; ESCALANTE, A.; SVETAZ, L.; ZACCHINO, S.; MONACHE, F. D. Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* using bioassay-guided fractionation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, New Jersey, v. 8, n. 2, p. 335-339, 2005.

MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia das angiospermas: das magnoliáceas às acurtiáceas**. Santa Maria: UFSM, 1997. 271 p.

MARIOT, A. **Fundamentos para o manejo de populações naturais de *Drimys brasiliensis* Miers - Winteraceae**. 129 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Setor de Concentração de Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MASHIMBYE, M. J.; MAUMELA, M. C.; DREWES, S. E. A drimane sesquiterpenoid lactone from *Warburgia salutaris*. **Phytochemistry**, Keystone, v. 51, n. 3, p. 435-438, 1999.

MATIAS, S. S. R.; DIAS, C. T.; ANDRADE, L. A.; SATO, A. Y.; SOUZA, A. P. Efeito da época de coleta e do diâmetro da estaca na produção de mudas de *Celtis* sp. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 52, João Pessoa, **Anais...** João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, p. 75, 2001.

MORTON, J. F. Winteraceae, *Drimys* Family. In:____. Thomas CC Atlas of medical plants in middle America-Bahamas to Yucatan. Ilinoís: Springfield Thomas, p. 219, 1981.

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

NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G.; COLWELL, R. K. Diversity of long-term flowering patterns. In: __. La selva: Ecology and natural history of a neotropical rain forest. University Chicago Press: Chicago, p. 142-160, 1994.

NIERO, R.; MALHEIROS, A. Principais aspectos químicos e biológicos dos terpenos. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia.** 1. ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, p. 239–257, 2007.

NORBERTO, P. M.; CHALFUN, N. N. J.; PASQUAL, M.; VEIGA, R. D.; PEREIRA, G. E.; MOTA, J. H. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 533-541, 2001.

OLIVEIRA, M. A. T.; BEHLING, F.; PESSENDA, L. C. R. Late-Pleistocene and mid-Holocene environmental changes in highland valley head areas of Santa Catarina state, Southern Brazil. **Journal of South American Earth Sciences**, Mexico, v. 26, n. 1, p. 55-67, 2008.

OLIVEIRA, A. F.; CHALFUN, N. N. J.; ALVARENGA, A. A.; VIEIRA NETO, J.; PIO, R.; OLIVEIRA, D. L. Estaquia de oliveira em diferentes épocas, substratos e doses de AIB diluído em NaOH e álcool. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 79-85, 2009.

OLIVEIRA, M. F.; MATTOS, P. P. Crescimento de *Drimys brasiliensis* na Floresta Ombrófila Mista, Colombo, PR. **Pesquisa Floresta Brasileira**, Colombo, v. 30, n. 61, p. 79-83, 2010.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da Fisiologia do Enraizamento de Estacas Caulinares**. Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FUNEP), 1996. 83 p.

OSHIRO, C. R.; MACCARI JUNIOR, A. **Cachaças do Paraná: de gole em gole... da cana ao copo...** 1. ed. Curitiba: SEBRAE-PR, 2005. 104 p.

PAGEL, F. E. **Produção de mudas florestais por via assexuada**. Santa Rosa: ANORGS, 2004. 37 p. Caderno Didático 3.

PIMENTA, A. C. **Interações entre reguladores vegetais, épocas do ano e tipos de substratos no enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax**. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. 6. ed. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p. 1926-1978, 1931.

RIBEIRO, V. L. S.; ROLIM, V.; BORDIGNON, S.; HENRIQUES, A. T.; DORNELES, G. G.; LIMBERGER, R. P.; VON POSER, G. Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus and the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasitol Research**, Berlin, v. 102, n. 3, p. 531-535, 2008.

ROLSTON, S. H.; BERWART, C. A. F.; PEREZ-MUNOZ, C. A. Adventitious root formation and development in cuttings of *Mussaenda erythrophylla* L. Schum. & Thonn. **Hortsciense**, Porto Rico, v. 31, n. 6, p. 1023-1025, 1996.

ROTTA, E. **Identificação dentrológica do Parque Municipal da Barreirinha, Curitiba, PR**. 271 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1977.

SILVA, I. C. **Propagação vegetativa de *Octea puberula* Benth & Hook e *Octea pretiosa* Nees pelo método de estaquia**. 109 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1984.

SILVA, M. O. C. C. B. **Estaquia caulinar de *Ateleia glazioveana* Baillon, Leguminosae - Papilionoideae**. 101 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SMITH, A. C. The American species of *Drimys*. **Journal of the Arnold Arboretum**, Cambridge, v. 24, n. 1, p. 1- 33, 1943.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1986. 147 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: BR Petrobras, 1997. 19 p.

UGAZ, O. L. **Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de Productos Naturales**. 2. ed. Peru: Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272 p.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 1. ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2007.

WELSH, F. W.; MURRAY, W. D.; WILLIAMS, R. E., Microbiological and Enzymatic Production of Flavour and Fragrance Chemicals. **Critical Reviews in Biotechnology**, London, v. 9, n. 2, p. 105-169, 1989.

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