

# Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de espécies da família *Myrtaceae*

## Volatil oil antimicrobial activity investigation from some *Myrtaceae* family species

Renata P. Limberger, Miriam A. Apel<sup>1</sup>, Marcos Sobral, Elfrides E. S. Schapoval & Amélia T. Henriques

**RESUMO** – Óleos voláteis de folhas frescas de espécies pertencentes a família *Myrtaceae*, de ocorrência no sul do Brasil, obtidos por extração através de destilação por arraste de vapor foram avaliados quanto à sua atividade antimicrobiana. As espécies analisadas foram: *Acca sellowiana*, *Calyptanthes lucida*, *Eugenia bacopari*, *Eugenia pluriflora*, *Eugenia uruguayensis*, *Gomidesia schaueriana*, *Gomidesia sellowiana*, *Hexachlamys edulis*, *Marlierea eugeniopsoides*, *Myrceugenia cucullata*, *Myrceugenia myrcioides*, *Myrceugenia oxyssepala*, *Myrcia lajeana*, *Myrcia oligantha*, *Myrcia rostrata*, *Paramyrciaria delicatula* e *Siphoneugena reitzii*. Este estudo foi realizado pelo método de difusão em ágar, avaliando a ação inibitória frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados obtidos permitiram observar que os óleos voláteis ensaiados apresentaram atividade antimicrobiana em diferentes graus de potência, sendo que *M. eugeniopsoides* demonstrou maior atividade frente a todos os microrganismos testados e *M. cucullata* inibição total contra *S. cerevisiae*.

**PALAVRAS-CHAVE** – *Myrtaceae*, atividade antimicrobiana, óleo volátil, *Acca sellowiana*, *Calyptanthes lucida*, *Eugenia bacopari*, *Eugenia pluriflora*, *Eugenia uruguayensis*, *Gomidesia schaueriana*, *Gomidesia sellowiana*, *Hexachlamys edulis*, *Marlierea eugeniopsoides*, *Myrceugenia cucullata*, *Myrceugenia myrcioides*, *Myrceugenia oxyssepala*, *Myrcia lajeana*, *Myrcia oligantha*, *Myrcia rostrata*, *Paramyrciaria delicatula* e *Siphoneugena reitzii*.

**SUMMARY** – In this paper was evaluated the antimicrobial activity of essential oils obtained by hydrodistillation from fresh leaves of the following species, belonging to the *Myrtaceae* family, collected from different areas of the south of Brazil: *Acca sellowiana*, *Calyptanthes lucida*, *Eugenia bacopari*, *Eugenia pluriflora*, *Eugenia uruguayensis*, *Gomidesia schaueriana*, *Gomidesia sellowiana*, *Hexachlamys edulis*, *Marlierea eugeniopsoides*, *Myrceugenia cucullata*, *Myrceugenia myrcioides*, *Myrceugenia oxyssepala*, *Myrcia lajeana*, *Myrcia oligantha*, *Myrcia rostrata*, *Paramyrciaria delicatula* e *Siphoneugena reitzii*. The antimicrobial activity survey was tested using the plate agar gel diffusion method, evaluating the inhibitory action against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. The results obtained allowed us to observe that the volatile oils analysed showed antimicrobial activity in different potential levels, considering that *M. eugeniopsoides* showed most activity against all the microorganisms tested and *M. cucullata* total inhibition activity against *S. cerevisiae*.

**KEY WORDS** – *Myrtaceae*, antimicrobial activity, volatile oil, *Acca sellowiana*, *Calyptanthes lucida*, *Eugenia bacopari*, *Eugenia pluriflora*, *Eugenia uruguayensis*, *Gomidesia schaueriana*, *Gomidesia sellowiana*, *Hexachlamys edulis*, *Marlierea eugeniopsoides*, *Myrceugenia cucullata*, *Myrceugenia myrcioides*, *Myrceugenia oxyssepala*, *Myrcia lajeana*, *Myrcia oligantha*, *Myrcia rostrata*, *Paramyrciaria delicatula* and *Siphoneugena reitzii*.

### INTRODUÇÃO

A família *Myrtaceae* compreende cerca de 100 gêneros e 3.000 espécies de árvores e arbustos, que se distribuem por todos os continentes, à exceção da Antártida, mas com nítida predominância nas regiões tropicais e subtropicais (Marchiori e Sobral, 1998). As espécies pertencentes à família são co-

nhecidas por apresentarem fruto comestível, destacando-se a pitangueira (*Eugenia uniflora*), a cerejeira (*Eugenia involucrata*) e a jabuticaba (*Plinia trunciflora*). Na medicina popular, as folhas são largamente utilizadas como diuréticas, adstringentes, antirreumáticas, eupépticas, carminativas e, especialmente, como antiarréicas (Corrêa, 1984; Schultz, 1985; Simões, 1986).

Neste trabalho foi analisada a atividade antimicrobiana das seguintes espécies:

- *Acca sellowiana* (Berg) Burret (goiaba-da-serra): árvore pequena (até 5 m de altura) ou arbusto, nativa do Uruguai, Argentina e campos do planalto sul-brasileiro;

- *Calyptanthes lucida* Mart. ex DC.

Recebido em 09.06.98

Faculdade de Farmácia, UFRGS – Av. Ipiranga 2752, 90610.000, Porto Alegre, RS.

<sup>1</sup>Bolsista CAPES

(guamirim): árvore (10-15 m de altura) da floresta ombrófila densa (mata atlântica) do litoral do Brasil, tendo sido coletada desde o Maranhão até o Rio Grande do Sul (Legrand e Klein, 1971);

- *Eugenia bacopari* Legrand (guamirim): árvore de 4-15 m de altura, ocorrente na mata ombrófila densa do sul do Brasil, desde Paraná até Rio Grande do Sul (Legrand e Klein, 1969a);

- *Eugenia pluriflora* DC. (guamirim): arvoreta de 3-6 m de altura, ocorrente em diversas formações vegetais desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (Legrand e Klein, 1969a); no Rio Grande do Sul sua distribuição é restrita ao planalto, onde ocorre nas formações de floresta ombrófila mista (mata de araucária);

- *Eugenia uruguayensis* Camb. (guamirim): árvore de porte pequeno a médio (até 10 m de altura), habitando as florestas ciliares do Uruguai, Rio Grande do Sul e áreas adjacentes da Argentina;

- *Gomidesia schaueriana* Berg (guamirim): árvore 6-15 m de altura de mata ombrófila densa e formações pioneiras (restingas), ocorrendo no litoral do Brasil desde a Bahia até o Rio Grande do Sul (embora Legrand e Klein (1967) citem sua ocorrência apenas até o Rio de Janeiro, a espécie foi coletada posteriormente mais ao norte). No Rio Grande do Sul, a espécie limita-se ao litoral norte do estado;

- *Gomidesia sellowiana* Berg (guamirim): arvoreta 4-8 m de altura, ocorrente em florestas ombrófilas mista e densa desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (Legrand e Klein, 1967). No Rio Grande do Sul ocorre somente na mata ombrófila mista do planalto;

- *Hexachlamys edulis* (Berg) Kausel et Legr. (pêssego-do-mato): arbusto entouceirado ou árvore de até 10 m de altura, originária do Paraguai e nordeste argentino, irradiando-se até o Uruguai e Rio Grande do Sul;

- *Martierea eugeniopsoides* (Legrand et Kausel) Legrand (guamirim-branco): arvoreta de 3-8 m de altura das florestas ombrófilas densas do Paraná ao Rio Grande do Sul (Legrand e Klein, 1971, sob *Calyptranthes eugeniopsoides* Legr. et Kaus.);

- *Myrceugenia cucullata* Legrand (guamirim): arvoreta de 2-5 m de altura, ocorrendo nas matas ombrófilas densas do Paraná ao Rio Grande do Sul (Landrum, 1981);

- *Myrceugenia myrcioides* (Camb.) Berg (guamirim): arvoreta de até 6 m de altura de diversas formações vegetais, ocorrendo desde Minas Gerais até Rio Grande do Sul (Landrum, 1981). No Rio Grande do Sul, ocorre nas florestas ombrófilas mista e densa;

- *Myrceugenia oxyssepala* (Burret) Legrand et Kausel (guamirim): arvoreta de 2-6 m de altura, crescendo na mata ombrófila mista, desde o Paraná até o Rio Grande do Sul (Landrum, 1981);

- *Myrcia lajeana* Legrand (camboim): arvoreta de 3-6 m de altura ocorrente na floresta ombrófila mista, desde o Paraná até o Rio Grande do Sul (Legrand & Klein, 1969b);

- *Myrcia oligantha* Berg (guamirim): arvoreta de 4-6 m de altura, ocorrente nas formações florestais do sudeste e sul do Brasil, desde Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul (Legrand & Klein, 1969b, sob o nome de *Myrcia richardiana* var. *fenzliana*; sobre a nomenclatura, ver Marchiori e Sobral, 1998). No Rio Grande do Sul, sua ocorrência é restrita à floresta ombrófila mista, no planalto nordeste do estado;

- *Myrcia rostrata* DC. (guamirim): arvoreta de 3 a 10 m de altura, de diversas formações vegetais, desde savanas (campos cerrados) até florestas ombrófilas. Ocorre na Bolívia, Paraguai e Brasil (Bahia até Rio Grande do Sul; Legrand e Klein, 1969b). No Rio Grande do Sul, ocorre unicamente na floresta ombrófila densa do litoral norte do estado;

- *Paramyrciaria delicatula* (DC) Kausel (camboim): pequena árvore de 3 a 15 m de altura, crescendo desde a Bolívia até a região costeira do Brasil;

- *Siphoneugena reitzii* Legr. (camboim): árvore de até 12 m de altura, com distribuição geográfica estendendo-se do Rio Grande do Sul até Paraná.

A investigação das atividades antibacteriana e antifúngica de óleos voláteis têm sido objeto de muitos estudos (Meeker e Linke, 1988; Lemos *et al.*, 1990; Barel *et al.*, 1991; Jedlickova, 1992; Carson e Riley, 1995; Kuhnt *et al.*, 1995; Titrellini, 1996). Apesar de serem diversos os trabalhos realizados com óleos voláteis e sua possível atividade antimicrobiana, poucas são as informações a respeito deste tipo de estudo envolvendo a família *Myrtaceae* (Adebajo *et al.*, 1989; Fratini *et al.*, 1991;

Miranda *et al.*, 1991; Silveira *et al.*, 1991; Lima *et al.*, 1993).

Como parte de um estudo sistemático da composição química e avaliação da atividade biológica de espécies da família *Myrtaceae* (Henriques *et al.*, 1993; Schapoval *et al.*, 1994; Henriques *et al.*, 1997), neste trabalho foram avaliadas a atividade antimicrobiana de óleos voláteis obtidos por extração por arraste de vapor de folhas frescas de espécies de ocorrência no sul do Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

As folhas das espécies foram coletadas das populações nativas nos meses de abril e maio de 1997, no litoral, na campanha e na região serrana do Rio Grande do Sul. As espécies foram identificadas por M. Sobral (Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS). Um exemplar de cada planta foi depositado no Herbário do Departamento de Botânica da UFRGS (ICN). Os dados de coleta das espécies encontram-se descritos na Tabela I.

### Obtenção do óleo volátil

O óleo volátil foi obtido a partir das folhas frescas, reduzidas com o auxílio de triturador mecânico e submetidas a destilação por arraste de vapor em processo contínuo com aparelho Clevenger, durante 5 horas. A quantificação foi realizada por leitura do volume coletado no frasco florentino do aparelho de Clevenger (Farmacopéia Brasileira 1988; OMS, 1992).

### Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi testada em placas de Petri pelo método de difusão em ágar com discos de papel filtro estéreis de 6,35 mm de diâmetro (Schapoval *et al.*, 1988).

### Atividade antibacteriana

Foram realizados repiques de cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538p), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Micrococcus luteus* (ATCC 9341), para meio nº 1 de Grove-Randall (1955) em tubos inclinados e incubados a 37°C, por 24 horas. A partir destas sementeiras, foram realizados novos repiques para meio nº 3 de Grove-Randall e incubados por mais 24 horas, a 37°C, para obter a suspensão de bactérias para o preparo dos inóculos a 1% (v/v) em meio nº 11 de Grove-Randall. Este meio também serviu de camada base no preparo das placas.

### Ensaio em placas

Para os experimentos, cada placa recebeu 20 ml de meio nº 11 de Grove-Randall e, após solidificação da camada base, 5 ml de inóculo. Solidificado o inóculo, foram distribuídos seis discos em cada placa. Para cada amostra ensaiada foram utilizados grupos de 4 placas de cada microrganismo.

Os discos de papel foram previamente impregnados com as amostras e mantidos em dessecador a vácuo, por 24 horas, sob refrigeração. Os volumes aplicados foram 20 ml de óleo volátil, branco e padrão. Foi utilizado como branco água estéril.

O padrão utilizado foi cloranfenicol na concentração de 400 mg/ml. As placas foram incubadas por 24 horas, a 37°C, com posterior leitura dos resultados.

### Atividade antifúngica

Foram utilizadas cepas de *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 1600), desenvolvidas em ágar Sabouraud (tubo inclinado) por 48 horas, a 25°C. A partir desta solução foi preparado o inóculo a 1% (v/v) em ágar Sabouraud.

A preparação das placas e distribuição das amostras foi realizada conforme descrito no item anterior. O padrão utilizado foi a nistatina na concentração de 3 mg/ml.

As placas foram incubadas por 48 horas, a 37°C.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento dos óleos voláteis obtidos variaram entre 0,06 e 0,84% e estão apresentados na Tabela II.

Os diversos óleos voláteis obtidos das folhas frescas de espécies da família *Myrtaceae* foram analisados quanto à sua atividade inibitória do crescimento de microrganismos utilizados na metodologia clássica, e os diâmetros das zonas de inibição formadas foram medidos com o auxílio de um paquímetro. Os resultados estão sumarizados na Tabela III.

O estudo da atividade antimicrobiana, realizado pelo método de difusão em ágar, permitiu observar que todos óleos voláteis ensaiados demonstram atividade antimicrobiana, sendo o melhor resultado apresentado por *M. eugeniospoides*, com excelente atividade inibitória frente a todos os microrganismos, destacando-se sua ação contra *S. epidermidis*, *S. aureus*, *M. luteus* e *S. cerevisiae*.

A *E. coli* foi o microrganismo que demonstrou maior resistência frente aos óleos testados, sendo inibido moderadamente (++) apenas por *M. eugeniospoides* e levemente (+) por *P. delicatula*.

A *M. cucullata* apresentou boa (+++) atividade inibitória frente a *S. aureus* e inibição total (IT) contra *S. cerevisiae*, demons-

trando apresentar potencial atividade antimicrobiana.

A *E. pluriflora*, *E. uruguayensis*, *M. oxysepala* e *S. reitzii* apresentaram leve a moderada ação antimicrobiana frente a todos microrganismos testados, com exceção de *E. coli*.

A *P. delicatula* apresentou leve ação antimicrobiana frente a todos microrganismos testados, com exceção de *C. albicans*.

Os óleos voláteis de *A. sellowiana*, *C. lucida*, *G. sellowiana*, *G. schaueriana*, *H. edulis*, *M. myrcioides* e *M. rostrata* apresentaram leve a moderada atividade contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* e *S. cerevisiae*, enquanto que *M. oligantha* demonstrou moderada atividade contra *S. aureus* e *S. epidermidis* e leve ação frente *M. luteus*, sendo inativa contra fungos. *E. bacopari* e *M. lajeana* apresentaram, ambas, leve ação frente *S. aureus* e a *M. luteus* e *S. epidermidis*, respectivamente.

Em trabalhos anteriores (Jedlickova *et al.*, 1992; Barel *et al.*, 1991; Carson e Riley, 1995), a presença de substâncias com ação antimicrobiana na composição química do óleo volátil de diversas espécies foram identificadas, destacando-se os seguintes constituintes: terpinen-4-ol, terpinoleno, 1,8 cineol, linalool e alfa-terpineol, eugenol, timol e citral. Investigações da composição química do óleo volátil das

TABELA I  
Dados de coleta e rendimento do óleo volátil das espécies em estudo\*

Espécie	Inscrição Herbário	Local da coleta
<i>A. sellowiana</i>	Sobral <i>et al.</i> 8363	Aparados da Serra
<i>C. lucida</i>	Sobral e Apel 8384a	Dom Pedro de Alcântara
<i>E. bacopari</i>	Sobral e Apel 8376	Dom Pedro de Alcântara
<i>E. pluriflora</i>	Sobral <i>et al.</i> 8349	Aparados da Serra
<i>E. uruguayensis</i>	Sobral e Apel 8379	Torres
<i>G. sellowiana</i>	Sobral <i>et al.</i> 8357	Aparados da Serra
<i>G. schaueriana</i>	Sobral <i>et al.</i> 8367	Torres
<i>H. edulis</i>	Sobral e Apel 8611	Lami
<i>M. eugeniospoides</i>	Sobral e Apel 8383a	Dom Pedro de Alcântara
<i>M. cucullata</i>	Sobral <i>et al.</i> 8364	Aparados da Serra
<i>M. myrcioides</i>	Sobral e Apel 8378	Torres
<i>M. oxysepala</i>	Sobral <i>et al.</i> 8345	Aparados da Serra
<i>M. lajeana</i>	Sobral <i>et al.</i> 8365	Aparados da Serra
<i>M. oligantha</i>	Sobral <i>et al.</i> 8348	Aparados da Serra
<i>M. rostrata</i>	Sobral <i>et al.</i> 8368	Litoral
<i>P. delicatula</i>	Sobral <i>et al.</i> 8354	Aparados da Serra
<i>S. reitzii</i>	Sobral <i>et al.</i> 8373a	Aparados da Serra

\* Todas as espécies encontravam-se em fase estéril exceto *M. rostrata* em fase de frutificação.

TABELA II  
Rendimento em óleo volátil

Espécie	Rendimento (%)
<i>A. sellowiana</i>	0,52
<i>M. cucullata</i>	0,40
<i>C. lucida</i>	0,55
<i>M. myrcioides</i>	0,33
<i>E. bacopari</i>	0,12
<i>M. oxysepala</i>	0,21
<i>E. pluriflora</i>	0,15
<i>M. lajeana</i>	0,25
<i>E. uruguayensis</i>	0,41
<i>M. oligantha</i>	0,06
<i>G. sellowiana</i>	0,29
<i>M. rostrata</i>	0,18
<i>G. schaueriana</i>	0,24
<i>P. delicatula</i>	0,30
<i>H. edulis</i>	0,17
<i>S. reitzii</i>	0,84
<i>M. eugeniospoides</i>	0,32

**TABELA III**  
**Atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar dos óleos voláteis das espécies analisadas**

Espécie	Microorganismo					
	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538p)	<i>S. epidermidis</i> (ATCC 12228)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>M. luteus</i> (ATCC 9341)	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	<i>S. cerevisiae</i> (ATCC 1600)
<i>A. sellowiana</i>	+	+	NT	+	R	+
<i>C. lucida</i>	+	+	R	+	R	+
<i>E. bacopari</i>	+	R	NT	+	R	NT
<i>E. pluriflora</i>	+	+	NT	++	+	++
<i>E. uruguayensis</i>	R	++	NT	++	+	+++
<i>G. sellowiana</i>	+	+	R	+	R	+
<i>G. schaueriana</i>	+	+	R	+	R	+
<i>H. edulis</i>	+	+	NT	+	NT	++
<i>M. eugeniopsoides</i>	+++	+++	++	++++	++	+++
<i>M. cucullata</i>	+++	+	R	+	+	IT
<i>M. myrcioides</i>	++	+	R	+	R	+
<i>M. oxypepala</i>	++	+	R	+	+	++
<i>M. lajeana</i>	+	+	R	R	R	NT
<i>M. oligantha</i>	++	++	R	+	R	R
<i>M. rostrata</i>	+	+	R	+	R	+
<i>P. delicatula</i>	+	+	+	+	R	+
<i>S. reitzii</i>	+	+	NT	++	+	+++

Média de 3 a 4 determinações. (R)-resistente; (NT)-não testado; (+)- 7-11mm; (++)- 11-16mm; (+++)- 16-20mm; (++++)- 20-24mm; IT- inibição total.

espécies analisadas neste trabalho, incluindo outras espécies da família *Myrtaceae*, estão sendo realizadas, bem como a sua relação com a atividade antimicrobiana através da técnica de bioautografia.

#### AGRADECIMENTOS

O presente trabalho é subvencionado com auxílios a pesquisa FAPERGS e bolsas de estudo CAPES e CNPq. Os autores agradecem ao auxílio técnico prestado por Cristiane da Silva Rauber e Evelise Reche.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adebajo, A. C.; Oloke, K. J.; Aladesanmi, A. J. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*. *Fitoterapia* n.5, p.451-455, 1989.
- Barel, S.; Segal, R.; Yashphe, J. The antimicrobial activity of essential oil from *Achillea fragrantissima*. *J. Ethnopharmacol.*, v. 33, n.1-2, p. 187, 1991.
- Carson, C. F.; Riley, T. V. Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl. Bacteriol.*, v. 38, n. 3, p. 264, 1995.
- Corrêa, P. *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. v.2. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, 1984.
- Farmacopéia Brasileira 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1988.
- Fratini, M.; Aurélio, V. J. W.; Schvan, A.; Batista, J. L.; Sobral, M.; Henriques, A. T.; Schapoval, E. E. S. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Cad. Farm.* v.7, p. J.47, 1991.
- Gbolade, A. A.; Ilesanmi, O. R.; Aladesanmi, A. J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. *Phytotherapy Research*, v.10, n.7, p.613-615, 1996.
- Grove, D. C.; Randall, W. A. Assay methods of antibiotics. *Medical encyclopedia*, New York, p. 34, 1955. Henriques, A. T.; Sobral, M.; Bridi, R. Vêrin, P.; Menut, C. Lamaty, G.; Bessière, J. M. Essential oil from five southern brazilian species of *Myrcia* (*Myrtaceae*). *J. Ess. Oil Research*, v.9, p.13-18, 1997.
- Henriques, A. T.; Sobral, M.; Bridi, R. Vêrin, P.; Menut, C. Lamaty, G. Bessière, J. M. Essential oil from five southern brazilian species of *Myrcia* (*Myrtaceae*). *J. Ess. Oil Research*, v.9, p.13-18, 1997.
- Jedlickova, Z.; Mottl, O.; Sery, V. Antibacterial properties of the Vietnamese cajeput oil and ocimum oil in combination with antibacterial agents. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* V. 36, n. 3, p. 303, 1992.
- Kuhnt, M.; Probstle, A.; Rimpler, H.; Bauer, R.; Heirich, M. Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. *Planta Med.*, v. 61, n. 3, p. 227, 1995.
- Landrum, L. R. A monograph of *Myrcogenia* (*Myrtaceae*). *Flora Neotropica* 29:1-137. 1981.
- Legrand, C. D.; Klein, R. M. Mirtáceas: *Gomidesia*. In Reitz, R. (org.) *Flora Ilustrada Catarinense*, Itajaí, p.1-44. 1967.
- Legrand, C. D.; Klein, R. M. Mirtáceas: *Eugenia*. In Reitz, R. (org.) *Flora Ilustrada Catarinense*, Itajaí, p. 45-216. 1969a.
- Legrand, C. D.; Klein, R. M. Mirtáceas: *Myrcia*. In Reitz, R. (org.) *Flora Ilustrada Catarinense*, Itajaí, p.217-330. 1969b.
- Legrand, C. D.; Klein, R. M. Mirtáceas: *Calyptanthus*. In Reitz, R. (org.) *Flora Ilustrada Catarinense*, Itajaí, p.489-552. 1971.
- Lemos, T. L. G.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Craveiro, Clark, A. M.; McChesney, J. D. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phyt. Res.* v.4, n.2, p.82, 1990.
- Lima, E. O.; Gompertz, O. F.; Giesbrecht, A. M.; Paulo, M. Q. *In vitro* antifungal activity of essential oils obtained from official plants against dermatophytes. *Mycoses*, v.36, n.9-10, p.333-336, 1993.
- Marchiori, J. N. C.; Sobral, M. *Dendrologia das Angiospermas - Myrtales*. Editora UFSM, 1998.
- Meeker, H. G.; Linke, H. A. The antibacterial action of eugenol, thyme oil, and related essential oils used in dentistry. *Compendium*. V. 9, n. 1, p. 34-5, 1988.
- Miranda, M. L.; Silveira, S. M.; Alice, C. B.; Henriques, A. T.; Schapoval, E. E. S. *Eugenia uniflora* L.: Avaliação de atividades biológicas. *Cad. Farm.* v.7, p. J.22, 1991.
- OMS - Organisation Mondiale De La Sante. *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*. Geneva, 1992. (Série de Informes Técnicos)
- Schapoval, E. E. S.; Alice, C. B.; Zuanazzi, J. A. S.; Silva, G. A. A. B.; Henriques, A. T. Determinação de atividade antimicrobiana dos extratos de *Syzygium cumini* Skeels. *Rev. Port. Farm.* v.38, n. 4, p. 55, 1988.
- Schapoval, E. E., Silveira, S. M., Miranda, M. L., Alice, C. B., Henriques, A. T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. *J. of Ethnopharmacol.*, v.44, n.3, p.137-142, 1994.
- Schultz, A. *Introdução à Botânica Sistemática*. v.2. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1985.
- Silveira, S. M.; Alice, C. B.; Henriques, A. T.; Schapoval, E. E. S. Estudos farmacológicos com folhas de *Blepharocalyx salicifolius* Berg. *Cad. Farm.* v.7, p. J.20, 1991.
- 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*, 3 ed., Editora da Universidade - UFRGS, Porto Alegre, 1989.
- Titillini, B.; Valesquez, E. R.; Pellegrino, R. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Piper angustifolium*. *Planta Med.* v. 62, n. 4, p. 372-373, 1996.