LURY YIBEL FORERO PEÑUELA

ACÚMULO DE BIOMASSA E PRODUÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PROCEDÊNCIAS DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britt. & P. Wilson, QUIMIOTIPO LINALOL, NO MUNICIPIO DE PINHAIS – PARANÁ.

CURITIBA

2010

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

F715 Forero Peñuela, Lury Yibel
Acúmulo de biomassa e produção do óleo essencial de procedências de *Lippia alba (Mill.)* N.E.Br ex Britt. & P. Wilson, quimiotipo linalol, no município de Pinhais – Paraná. – Curitiba, 2010.
84 f. : il.

Orientador: Cícero Deschamps
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós -Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, 2010

1. Plantas aromáticas. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Plantas medicinais. 4. Verbenaceae. I . Deschamps, Cícero. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós -Graduação em Agronomia – Produção Vegetal. III. Título

CDU 665.52

LURY YIBEL FORERO PEÑUELA

ACÚMULO DE BIOMASSA E PRODUÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PROCEDÊNCIAS DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britt. & P. Wilson, QUIMIOTIPO LINALOL, NO MUNICIPIO DE PINHAIS – PARANÁ.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Dr. Cícero Deschamps

CURITIBA

2010

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito ao professor Cícero, pela dedicação e paciência comigo. A meus pais Veiva e Joel e a minha irmã Zina, por serem uns dos principais estímulos pra continuar em frente e ser o suporte incondicional em tudo. A meu amor, Leonardo, por ser parte fundamental e vital para meu crescimento pessoal e profissional. À Universidade Federal de Paraná por me permitir fazer parte de seu grupo de estudantes de mestrado. Ao Programa REUNI pela bolsa dada no ultimo ano de estudo. A Embrapa- Rio de Janeiro pelos resultados oportunos de laboratório. Aos Senhores Altair Albert e Miguel Moraes por seus constantes cuidados com as plantas e incomparável ajuda na avaliação do experimento. Aos amigos que fiz no caminho e que foram essenciais na realização do trabalho: Jefferson, Márcio, Patrícia, Cristina, Rafaellen, Alline, Alexandro, Diógenes, César, Fernando, Magda, Vanessa, Idimar, Vera, Vanessa, Marcelle, Gelton. Aos funcionários Maria Emilia, Lucimara, Gilnei e Rainerio, pela sua inegável disposição. À família Gouvêa Rodrigues por ter aberto a porta da sua casa pra mim. A cada um dos professores da pós-graduação com quem tive aula. A Curitiba por ter me acolhido e me permitido conhecê-la.

"A natureza não se mostra nunca nem durante dois minutos igual a si mesma; pelo contrário, muda continuamente segundo a estação, o tempo, a hora e a luz, o frio ou o calor; tudo isso constituí sua fisionomia e isso é o que é preciso traduzir [...]."

Camille Corot

RESUMO

As plantas aromáticas constituem um importante mercado cuja demanda tem aumentado significativamente nos últimos anos pela procura de produtos naturais aplicados à indústria cosmética, farmacêutica e de alimentos. *Lippia alba* é um espécie aromática usada comumente na cultura popular pela suas propriedades calmantes, antidepressivas e analgésicas. É classificada em quimiotipos dependendo do composto majoritário presente no óleo essencial. Um dos quimiotipos de *L. alba* é o linalol que é um dos mais importantes compostos usados na indústria da perfumaria. Objetivou-se comparar o acúmulo de biomassa e produtividade do óleo essencial de *L. alba* quimiotipo linalol entre diferentes procedências nas condições de Pinhais- PR após dois cortes sucessivos. As procedências foram obtidas da Universidade de Brasília. O material foi multiplicado por meio de estaquia no mês de outubro de 2008 e o experimento foi conduzido na Estação Experimental do Canguiri, Pinhais- PR. Para as avaliações de desenvolvimento vegetativo, utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso em parcelas subdivididas no tempo, sendo comparadas 9 procedências em 5 períodos, com 4 repetições e 6 plantas cada. Foram realizadas colheitas em maio (primeiro corte) e outubro (rebrota) de 2009. Para as avaliações das colheitas, o delineamento experimental foi de blocos ao acaso comparando 9 procedências com 4 repetições e 6 plantas cada. No primeiro corte, a procedência “Lavras” destacou-se por ter o maior comprimento e número de folhas do ramo principal e maior massa seca de folhas em relação à maioria das procedências. A procedência “Muzambinho” apresentou maior teor de óleo essencial, porém sem diferença estatística com as procedências “Cruzeiro” “Lavras” e “Luminárias”. A maior produtividade do óleo essencial foi obtida na procedência “Lavras” e o maior conteúdo de linalol na procedência “Brasília 2”. Na segunda colheita, a procedência “Luziânia” apresentou valor de massa seca de folhas superior. A procedência “Muzambinho” apresentou teores de óleo essencial superiores, porém com menor produtividade de óleo essencial que “Brasília 2”. Altos conteúdos de linalol foram identificados na procedência “Brasília 2”, tanto no primeiro corte (92,10%) como no segundo (76,56%). Além do linalol foram identificados no primeiro corte os constituintes 1-8 cineol, trans-cariofileno e oxido de cariofileno. No segundo corte identificou-se 1-8 cineol, alfa-terpineol, neral, geranial, acetato de geranila, beta-cariofileno, oxido de cariofileno. O aumento no teor de linalol resultou em redução dos demais constituintes.

Palavras chaves: Planta aromática, óleo essencial, teor, quimiotipo, linalol, verbenaceae.

ABSTRACT

Aromatics plants belong to an important market which has increased due the use of natural products by the cosmetic, pharmaceutical and food industries. *Lippia alba* is an aromatic specie commonly used in popular folk medicine due to its sedative, anti depressive and analgesic characteristics. *L. alba* is classified into different chemotypes according to the major essential oil constituent. One of *L. alba* chemotype is linalool which is one of the most important compounds used in the fragrance industry. The objective of this work was to compare the vegetative growth, productivity and linalool contents of nine different genetic materials of *L. alba*, linalool chemotype, after two harvests. The plant materials with different linalool contents were obtained from Brasilia and were multiplied by stem cuttings. The experiment was carried out at the Experimental Station of Canguiri, Pinhais – PR. For the vegetative growth evaluation, a completely randomized design with subdivided units comparing nine genetic materials at five successive dates using four replications with six plants each. For the productivity evaluation, a completely randomized scheme comparing nine genetic materials with four replication and six plants each. At the first harvest, the genetic material "Lavras" showed great length and leaf number of the main stem, and leaf dry compared to other genetic materials. The genetic material "Muzambinho" presented superior essential oil yield but with no significant difference with "Cruzeiro" "Lavras" and "Luminárias". The higher essential oil productivity was observed in "Lavras" genetic material and higher linalool content in "Brasilia 2". At the second harvest, "Luziânia" had higher leaf dry mass. The "Muzambinho" genetic material showed higher essential oil yield but lower essential oil productivity than "Brasilia 2". High linalool contents were identified in essential opil samples of "Brasilia 2" genetic material at the first (92,10%) and second harvest (76,56%). Besides linalool, it was identified at the first harvest the constituents 1-8 cineol, trans-cariofilene and cariofilene oxide. At the second harvest it was identified 1-8 cineol, alfa-terpineol, neral, geranial, geranial acetate, beta-cariofilene, cariofilene oxide compounds. The increase of linalool content resulted on reduction of the other constituents.

Key words: Aromatic plant, essential oil, yield, chemotype, linalool, verbenaceae.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. *Lippia alba* (MILL.) N.E. BR. EX BRITT. & P. WILSON. A) RAMO DA PLANTA CULTIVADA NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, B) INFLORÊSCENCIA CAPITADA E C) DISPOSIÇÃO OPOSTO-DECUSSADA DAS FOLHAS. 18

FIGURA 2. TRICOMAS GLANDULARES DE *L. alba.* A) TRICOMA COM PEDÚNCULO ALONGADO E PORÇÃO CAPITADA BICELULAR (SETA ESTREITA) E TRICOMA TECTOR (SETA LARGA 30 μM). B) TRICOMA COM UMA CÉLULA BASAL, UMA CÉLULA INTERMEDIARIA E PORÇÃO CAPITADA BICELULAR. C) TRICOMA GLANDULAR COM GOTAS DE LIPÍDIOS (SETA) (SANTOS *ET AL.,* 2004). 19

FIGURA 3. PRINCIPAIS ROTAS DA SÍNTESE DOS COMPOSTOS MONOTERPÊNICOS MAJORITÁRIOS DOS QUIMIOTIPOS I ATÉ VI DE *Lippia alba (*HENNEBELLE *et al.,* 2006). 22

FIGURA 4. DIFERENTES FORMAS ESTRUTURAIS DA MOLÉCULA DE LINALOL 24

FIGURA 5 PRECIPITAÇÃO E UMIDADE RELATIVA DURANTE O EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, PINHAIS – PR, 2009. 32

FIGURA 6 MÉDIAS DE TEMPERATURA MÉDIA, MÁXIMA E MÍNIMA MENSAL DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba,*QUIMIOTIPO LINALOL, PINHAIS –PR, 2009. 33

FIGURA 7 CROQUI DO CULTIVO DAS NOVE PROCEDENCIAS DE *L. alba* TRANSPLANTADAS NO DIA 10/DEZ/2008 NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR. 36

FIGURA 8. COMPRIMENTO DO RAMO PRINCIPAL DAS PROCEDÊNCIAS DE *L. alba,* QUIMIOTIPO LINALOL, AVALIADAS DURANTE CINCO PERIODOS CONSECUTIVOS, NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, 2009. 38

FIGURA 9. NÚMERO DE RAMOS DAS PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, AVALIADAS EM CINCO PERIODOS CONSECUTIVOS. NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, 2009. 39

FIGURA 10. NÚMERO DE FOLHAS DO RAMO PRINCIPAL DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, AVALIADAS DURANTE CINCO PERIODOS CONSECUTIVOS IMPLANTADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, 2009. 39

FIGURA 11. PRECIPITAÇÃO E UMIDADE RELATIVA REGISTRADAS DURANTE O EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUMIOTIPO LINALOL, PINHAIS- PR, 2009. 58

FIGURA 12. MÉDIAS DE TEMPERATURA MÉDIA, MÁXIMA E MINIMA MESAL DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, PINHAIS – PR, 2009. 59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 RESULTADO DA ANÁLISE DO SOLO NA ÁREA EXPERIMENTAL NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR. NA PROFUNDIDADE DE 0-20 CM, 2008. 33

TABELA 2 NOVE PROCEDÊNCIAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA, 2009. 34

TABELA 3 ÍNDICE DE CORRELAÇÃO UTILIZADO NO EXPERIMENTO DE ACORDO COM INTERPRETAÇÃO DE SHIMAKURA E RIBEIRO JUNIOR (2006). 37

TABELA 4 MÉDIA DO COMPRIMENTO DO RAMO PRINCIPAL, NÚMERO DE RAMOS E NÚMERO DE FOLHAS DO RAMO PRINCIPAL AOS 150 DIAS APÓS O PLANTIO DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS- PR. (MARÇO-ABRIL/09). 40

TABELA 5 MÉDIAS DA MASSA SECA (MS) DE FOLHAS E RAMOS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, COLHIDAS ÁPOS 150 DIAS, (MAI/09). 41

TABELA 6 MÉDIAS DO TEOR E PRODUTIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL (OE) E PORCENTAGENS DE LINALOL DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, AVALIADOS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA. 43

TABELA 7 MATRIZ DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO SIMPLES ENTRE QUATRO PARAMETROS ANALISADOS DAS NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (MAIO-09). 46

TABELA 8 CONSTITUINTES DETERMINADOS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS FRESCAS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* IMPLANTADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR (MAIO-09). 47

TABELA 9 MATRIZ DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO SIMPLES ENTRE OS QUATRO CONSTITUINTES DETERMINADOS NA ANALISE CROMATOGRAFICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (MAIO-09). 49

TABELA 10 ÍNDICE DE CORRELAÇÃO UTILIZADO NO EXPERIMENTO DE ACORDO COM INTERPRETAÇÃO DE SHIMAKURA E RIBEIRO JUNIOR (2006). 61

TABELA 11 MÉDIA DA MASSA SECA (MS) DE FOLHAS E RAMOS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, (OUT/09)....62

TABELA 12 MÉDIAS DO TEOR, PRODUTIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL (OE) E LINALOL DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, AVALIADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, COLHIDAS APÓS 150 DIAS DO PRIMEIRO CORTE (OUT/09). 63

TABELA 13 MATRIZ DE COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE QUATRO VARIÁVEIS ANALISADAS DAS NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (OUT-09)....65

TABELA 14 CONSTITUINTES IDENTIFICADOS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS FRESCAS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, (OUT-2009). 66

TABELA 15 MATRIZ DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO SIMPLES ENTRE OS SETE CONSTITUINTES DETERMINADOS DA ANALISE QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (OUT-09)....68

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1.ANOVA PARA COMPRIMENTO DO RAMO PRINCIPAL NA PRIMEIRA COLHEITA DURANTE CINCO PERÍODOS CONSECUTIVOS EM INTERVALOS DE 15 DIAS (MAIO -2009). 78

ANEXO 2. ANOVA PARA NÚMERO DE FOLHAS DO RAMO PRINCIPAL NA PRIMEIRA COLHEITA DURANTE CINCO PERÍODOS CONSECUTIVOS EM INTERVALOS DE 15 DIAS (MAIO -2009) 78

ANEXO 3. ANOVA PARA NÚMERO DE RAMOS NA PRIMEIRA COLHEITA DURANTE CINCO PERÍODOS CONSECUTIVOS EM INTERVALOS DE 15 DIAS (MAIO-2009) 78

ANEXO 4. ANOVA PARA MASSA SECA DE FOLHAS G.PLANTA^{-1} NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS 79

ANEXO 5. ANOVA PARA MASSA SECA DE RAMOS G.PLANTA^{-1} NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS 79

ANEXO 6. ANOVA PARA MASSA SECA DE FOLHAS KG.HA^{-1} NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS..... 79

ANEXO 7. ANOVA PARA RELAÇÃO MASSA SECA FOLHAS / MASSA SECA TOTAL NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS 79

ANEXO 8. ANOVA PARA TEOR µL.G M.S.$^{-1}$ NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS ... 80

ANEXO 9. ANOVA PARA PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL L.HA^{-1} NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS 80

ANEXO 10. ANOVA PARA PORCENTAGEM DE LINALOL NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS 80

ANEXO 11. ANOVA PARA LINALOL (L.HA^{-1})NA PRIMEIRA COLHEITA AOS 150 DIAS ... 80

ANEXO 12. ANOVA PARA MASSA SECA DE FOLHAS G. PLANTA^{-1} DA REBROTA AOS 150 DIAS 81

ANEXO 13. ANOVA PARA MASSA SECA DE RAMOS GRAMA/PLANTA DA REBROTA AOS 150 DIAS..... 81

ANEXO 16. ANOVA PARA TEOR µL.G M.S.$^{-1}$ DA REBROTA AOS 150 DIAS 82

ANEXO 17. ANOVA PARA PRODUTIVIDADE L.HA^{-1} DA REBROTA AOS 150 DIAS..... 82

ANEXO 18. ANOVA PARA PORCENTAGENS DE LINALOL NA REBROTA AOS 150 DIAS 82

ANEXO 19. ANOVA PARA LITROS DE LINALOL POR HECTARE DA REBROTA AOS 150 DIAS 82

ANEXO 20. ANOVA DO CONSTITUINTE 1-8 CINEOL DO OE DE *L. alba* NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO (MAIO/09) 83

ANEXO 21. ANOVA DO CONSTITUINTE TRANS-CARIOFILENO DO OE DE *L. alba* NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO (MAIO/09) 83

ANEXO 22. ANOVA DO CONSTITUINTE OXIDO DE CARIOFILENO DO OE DE *L. alba* NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO (MAIO/09) 83

ANEXO 23. ANOVA DO CONSTITUINTE 1-8 CINEOL DO OE DE *L. alba* NA REBROTA (OUT/09). 83
ANEXO 24. ANOVA DO CONSTITUINTE ALFA-TERPINEOL DO OE DE *L. alba* NA REBROTA (OUT/09). 84
ANEXO 25. ANOVA DO CONSTITUINTE NERAL DO OE DE *L. alba* NA REBROTA (OUT/09). 84
ANEXO 26. ANOVA DO CONSTITUINTE GERANIAL DO OE DE *L. alba* NA REBROTA (OUT/09). 84
ANEXO 27. ANOVA DO CONSTITUINTE ACETATO DE GERANILA DO OE DE *L. alba* NA REBROTA (OUT/09). 84
ANEXO 28. ANOVA DO CONSTITUINTE BETA-CARIOFILENO DO OE DE *L. alba* NA REBROTA (OUT/09). 85
ANEXO 29. ANOVA DO CONSTITUINTE OXIDO DE CARIOFILENO DO OE DE *L. alba* NA REBROTA (OUT/09). 85

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15
2. REVISÃO DE LITERATURA 17
2.1. FAMÍLIA VERBENACEAE 17
2.2. A ESPÉCIE *Lippia alba* 17
2.2.1. Descrição botânica 18
2.2.2. Local de armazenamento do óleo essencial na planta 18
2.2.3. Distribuição 19
2.3. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS 20
2.3.1. Terpenos 20
2.3.2. Quimiotipos 21
2.3.3. Fatores que afetam a biosíntese de óleos essenciais 22
2.3.4. Aplicação do linalol na indústria 23
2.3.5. Comércio mundial de óleo essencial de *Lippia alba* 24
REFERÊNCIAS 25
3. CAPITULO I – ACÚMULO DE BIOMASSA DE *Lippia alba,* QUIMIOTIPO LINALOL, E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL NO PRIMEIRO CORTE .. 29
3.1. INTRODUÇÃO 31
3.2. MATERIAL E MÉTODOS 32
3.2.1. Área de estudo 32
3.2.2. Análise do solo 33
3.2.3. Adubação 33
3.2.4. Material vegetal e preparo de mudas 34
3.2.5. Plantio e colheita 34
3.2.6. Análise química do óleo essencial 36
3.2.7. Análises estatísticas 37
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 38
3.3.1. Acúmulo de biomassa 38
3.3.2. Massa seca de folhas e ramos 41
3.3.3. Teor, produtividade de óleo essencial e porcentagem de linalol 43
3.3.4. Correlações entre massa seca de folhas, teores, produtividades de óleo essencial e linalol 46
3.3.5. Composição do óleo essencial das folhas de *L. alba* 47
3.3.6. Correlação simples entre constituintes no primeiro corte de *L. alba* 48

3.4. CONCLUSÕES 50

REFERÊNCIAS 51

4. CAPITULO II - ACÚMULO DE BIOMASSA DE *Lippia alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DA REBROTA 54

4.1. INTRODUÇÃO 56

4.2. MATERIAL E MÉTODOS 58

4.2.1. Área de estudo 58

4.2.2. Adubação 59

4.2.3. Colheita 59

4.2.4. Delineamento experimental 60

4.2.5. Análise química do óleo essencial 60

4.2.6. Análises estatísticas 61

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 62

4.3.1. Massa seca de folhas e ramos 62

4.3.2. Teor, produtividade e teor de linalol do óleo essencial 63

4.3.3. Correlações entre parâmetros 65

4.3.4. Composição do óleo essencial da rebrota das folhas de *L. alba* 66

4.3.5. Correlação simples entre constituintes na rebrota de *L. alba* 68

4.4. CONCLUSÕES 70

REFERÊNCIAS 71

5. CONCLUSÕES GERAIS 74

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 75

ANEXOS 77

1. INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica e cosmética tem apresentado crescimento no uso dos óleos essenciais e de extratos de plantas, com ênfase em materiais provenientes de regiões tropicais (UNCTAD, 2005).

Os óleos essenciais são compostos voláteis de plantas aromáticas obtidos por meio de diversos métodos, sendo o mais comum a destilação por arraste de vapor de água ou hidrodestilação. A exploração dos óleos essenciais tem como vantagem a possibilidade de aumento do valor agregado, em comparação com a comercialização da planta fresca ou seca. A qualidade do óleo essencial vai depender da presença de determinado constituinte químico de interesse para a indústria.

A espécie *Lippia alba* é uma importante planta medicinal, usada frequentemente como sedativo, digestivo, antidepressivo e por sua propriedade analgésica (Yamamoto *et al.,* 2008; Oliveiro-Verdel *et al.,* 2009). O óleo essencial de *Lippia alba* tem sido agrupado em vários quimiotipos dependendo dos seus compostos majoritários, entre eles estão os quimiotipos carvona, mirceno, linalol, citral, geranial, limoneno, g-terpeneno e 1-8 cineol (Cicció; Ocampo, 2006; Hennebelle *et al.,* 2006).

Um dos quimiotipos de interesse é o linalol devido a sua utilização na síntese de vitamina E, na perfumaria, cosméticos e produtos de limpeza (SIDS, 2002). A indústria estima que as exportações brasileiras de linalol em 2009 foram de apenas 20 kg pelo valor de US$164, em quanto às importações foram de 598.382 kg, no valor de US$ 4.074.553 (ALICE WEB, 2010). Tem-se como referencia que a maior parte do linalol produzido tem origem sintética, portanto se justificam iniciativas de pesquisa que resultem no desenvolvimento tecnológico na produção natural deste constituinte.

Este trabalho objetivou comparar o acúmulo de biomassa e a produção do óleo essencial das folhas de nove procedências de *L. alba* quimiotipo linalol no município de Pinhais- PR, Região Metropolitana de Curitiba.

A dissertação foi estruturada em dois capítulos e uma revisão bibliográfica sobre a espécie *L. alba*, abordando suas características botânicas, áreas de distribuição na América, o local de armazenamento do óleo e breve histórico de seu mercado.

O capitulo I refere-se à avaliação do acúmulo de biomassa de *L. alba* quimiotipo linalol em cinco datas consecutivas, durante 150 dias, sendo determinado o rendimento, produtividade e composição do óleo essencial de nove procedências.

No capitulo II são apresentados os resultados da avaliação da rebrota (segunda colheita aos 150 dias), sendo avaliadas as características de teor, produtividade e composição do óleo essencial.

Ao final são apresentadas as conclusões e considerações finais sobre o trabalho apontando para os principais resultados e futuras pesquisas que poderão ser realizadas com *L. alba*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. FAMÍLIA VERBENACEAE

A família Verbenaceae compreende aproximadamente 75 gêneros e 3000 espécies, com distribuição em regiões tropicais e subtropicais e algumas regiões de clima temperado. As espécies apresentam hábito arbustivo, trepador e herbáceo (Celis, 2007).

O interesse econômico desta família deve-se aos diversos usos das espécies, como frutíferas, ornamentais e fonte de óleos essenciais. Os óleos essenciais de algumas espécies da família Verbenaceae têm sido mencionados pelas propriedades antimicrobianas contra *Eschericha coli*, *Staphyloccocus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Mycobacterium smegmaus* (Montiel *et al.*, 2007).

As propriedades funcionais ocorrem devido à composição química do óleo essencial. Os efeitos biológicos comuns da família Verbenaceae devem-se também à presença de metabólitos secundários comuns que exibem certas atividades inseticidas, antibactericida e antifúngica (Celis, 2007).

O gênero *Lippia* está amplamente distribuído desde regiões tropicais até subtropicais, na América do sul, América central, como também na África (Oliveiro-Verdel *et al.,* 2009).

2.2. A ESPÉCIE *Lippia alba*

Lippia alba (Mill.) N.E. Br. ex Britt. & P. Wilson é uma espécie que pertence à família Verbenaceae, sinônimos *Lippia geniculata* H.B.K., *Lantana alba* Mill., *Lantana lipiodes* Hook e Am, *Phyla germinata* H.B.K., *Lippia havanensis* Jurez. Denominada comumente como erva cidreira, melissa (Brasil), pronto alivio (Colômbia), juanilama (Costa Rica), salvia morada (Argentina, Uruguai) Oaxaca verbana (México), bushy lippia (USA) (UNCTAD 2005).

É uma importante planta medicinal, usada freqüentemente como sedativa, antidepressiva e analgésica. O óleo essencial de *L. alba* tem múltiplas aplicações

como anti-espasmódico, mal-estar estomacal, antiinfeccioso e analgésico devido à variabilidade fitoquímica (UNCTAD, 2005; Hennebelle *et al.,* 2006).

2.2.1. Descrição botânica

L. alba caracteriza-se como um arbusto aromático com ramos de 1 a 2 m de altura (UNCTAD, 2005), folhas de nervação conspícua, oposto-decussadas, pecioladas, lâminas ovado-oblongas de 2-7 cm de comprimento, ápice agudo a obtuso, margem serrilhada, base cuneada. Apresenta inflorescência axilar, capitada e floração durante o ano todo (Vit *et al.,* 2002) (Figura 1).

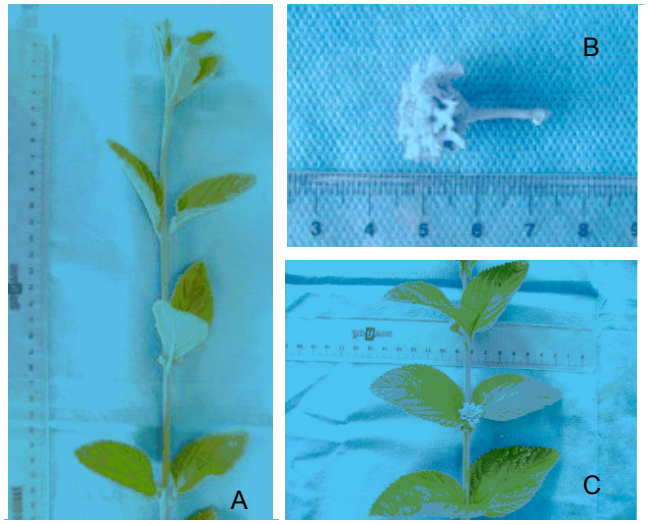

FIGURA 1. *Lippia alba* (MILL.) N.E. BR. EX BRITT. & P. WILSON. A) RAMO DA PLANTA CULTIVADA NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, B) INFLORÊSCENCIA CAPITADA E C) DISPOSIÇÃO OPOSTO-DECUSSADA DAS FOLHAS.

2.2.2. Local de armazenamento do óleo essencial na planta

O óleo essencial da espécie está armazenado em tricomas glandulares peltados (presentes na epiderme foliar) e nos parênquimas paliçádico e lacunoso (Barbosa *et al.,* 2006). Segundo Combrinck *et al.* (2007), a maior densidade de tricomas ocorre próximo aos vasos condutores.

L. alba apresenta três tipos de tricomas glandulares. O primeiro tipo apresenta uma célula basal, um pedúnculo alongado e uma porção capitada bicelular (Figura 2a). O segundo é formado por uma célula basal, uma célula intermediária e uma porção capitada bicelular (Figura 2b) e o terceiro tipo é formado por uma célula basal estreita e uma porção capitada globosa (Figura 2c) (Santos *et al.,* 2004).

A distribuição e a estrutura dos tricomas sobre as superfícies das plantas contribuem para o controle da transpiração e temperatura foliar, além disso, a densidade de tricomas e os compostos fenólicos nestas estruturas proporcionam a proteção dos órgãos contra os raios UV-B (Combrinck *et al.,* 2007).

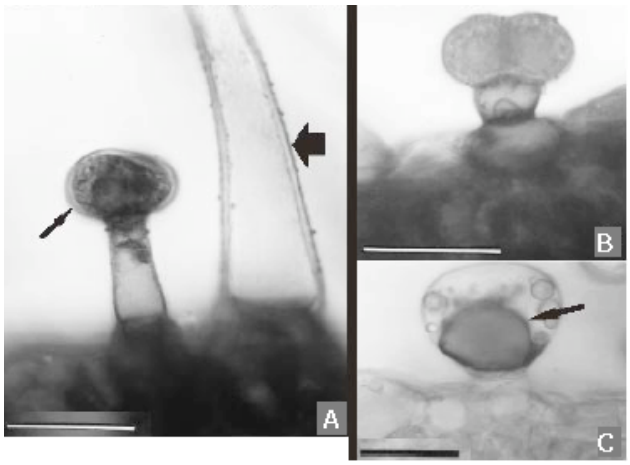

FIGURA 2. TRICOMAS GLANDULARES DE *L. alba.* A) TRICOMA COM PEDÚNCULO ALONGADO E PORÇÃO CAPITADA BICELULAR (SETA ESTREITA) E TRICOMA TECTOR (SETA LARGA 30 μM). B) TRICOMA COM UMA CÉLULA BASAL, UMA CÉLULA INTERMEDIARIA E PORÇÃO CAPITADA BICELULAR. C) TRICOMA GLANDULAR COM GOTAS DE LIPÍDIOS (SETA) (SANTOS *et al.,* 2004).

2.2.3. Distribuição

L. alba distribui-se desde o México até a Argentina, passando por Cuba, Brasil, Uruguai e Paraguai, com grande plasticidade fenotípica e adaptação em diferentes condições ambientais (Palácio-Lopéz e Rodríguez-Lopéz, 2007). Devido às alterações morfológicas e fisiológicas apresenta tolerância à seca, podendo suportar de 4 a 6 meses sem chuva (Díaz ; Pacheco, 2000; Arambarri *et al.,* 2006).

A espécie cresce com temperatura média de 24ºC, umidade relativa de 75%, precipitação média anual de 1.056 mm, em áreas com duas estações definidas (seca e chuvosa) (Rueda *et al.,* 2007) e com altitudes de 0 até 1.800 m (Celis, 2007), podendo se desenvolver em solos de pH de 4,4 a 7,9 (Santos; Inneco, 2004; Antonilez-Delgado; Rodriguez- López, 2008). Apresenta bom desenvolvimento em solos bem e mal drenados (Vit *et al.,* 2003).

2.3. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas produzem uma ampla e diversa gama de compostos orgânicos que são conhecidos como metabólitos secundários. Estes vagamente têm sido definidos como os compostos orgânicos que não estão envolvidos diretamente em processos metabólicos primários tais como fotossíntese, respiração celular, divisão celular ou crescimento celular (Metlen *et al*. 2009).

Os metabólitos secundários possuem diversas funções no desenvolvimento e na reprodução da espécie (Kutchan, 2001), e desempenham papéis importantes nas respostas locais e sistêmicas na defesa das plantas contra o ataque de insetos, microorganismos patógenos, sendo úteis no processo de polinização e alelopatia (Dudareva *et al.,* 2004; Iijima *et al.,* 2004).

O termo metabolito secundário é questionado pelo autor Kutchan (2001), segundo ele pela característica pejorativa que ele tem, devido o fato de ser considerados produtos de resíduo, metabolitos de sobra e excrementos. Sendo que são compostos alvos envolvidos no desenvolvimento da planta e chave para entender a interação planta e seu entorno.

Estes compostos denominados secundários se dividem principalmente em terpenos e fenilpropanoides. Estes dois tipos de compostos apresentam diferentes origens genéticas, precursores primários e rotas biosintética (Sanwgan *et al*., 2001). No óleo essencial de *L. alba* predominam os terpenos.

2.3.1. Terpenos

Os terpenos representam a segunda maior classe de constituintes de plantas, perdendo apenas para os alcalóides, e estão subdivididos em várias subclasses dependendo das unidades de 5 carbonos que os compõem (Larcher, 2004).

Os terpenos são sintetizados por rotas metabólicas distintas. A mais conhecida é a rota do ácido mevalônico na qual três moléculas de acetil-CoA se unem para formar o mevalonato que após fosforilação e descarboxilação, resulta na formação de isopentenil fosfato. Esta estrutura vai ser a base para a síntese dos terpenos. A segunda rota metabólica é conhecida como rota do fosfato de metil eritritrol fosfato (MEP), a qual leva a formação do precursor dos terpenos (isopentenil fosfato). As

uniões sucessivas destas estruturas produzem terpenos de diferentes pesos moleculares, monoterpenos (dois isoprenos), sesquiterpenos (três isoprenos) e triterpenos (seis isoprenos) (Azcon e Talon, 2000).

Segundo Duderava *et al.* (2004), a estrutura das rotas da biosíntese destes metabólitos secundários está baseada no conhecimento dos precursores isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP), que condensados dão origem ao geranil difosfato (GPP), sendo este o precursor dos monoterpenos.

2.3.2. Quimiotipos

O termo quimiotipo refere-se à classificação utilizada para agrupar populações de uma mesma espécie de acordo com a preservação dos compostos majoritários em seu óleo essencial. Os quimiotipos de *Lippia alba* são selecionados em função da constituição química dos terpenos majoritários do óleo essencial, tais como citral, linalol, carvona, geranial, 1-8 cineol (Pimenta *et al.,* 2007).

Segundo Hennebelle *et al.* (2006), um total de sete quimiotipos foram determinados para *L. alba*. O quimiotipo I onde o citral e/ou linalol estão em altas quantidades e são os compostos majoritários. Germacreno é o composto majoritário no grupo das plantas que pertence ao quimiotipo II. Quando o composto majoritário é limoneno, corresponde ao quimiotipo III. No quimiotipo IV, o composto principal é o mirceno; o quimiotipo V possui g-terpeneno; o quimiotipo VI, canfora e 1,8-cineol são os predominantes e finalmente no quimiotipo VII cujo principal constituinte é o estragol.

Na Figura 3 podem ser observadas as rotas da síntese dos principais compostos monoterpênicos dos quimiotipos de *L. alba*. .

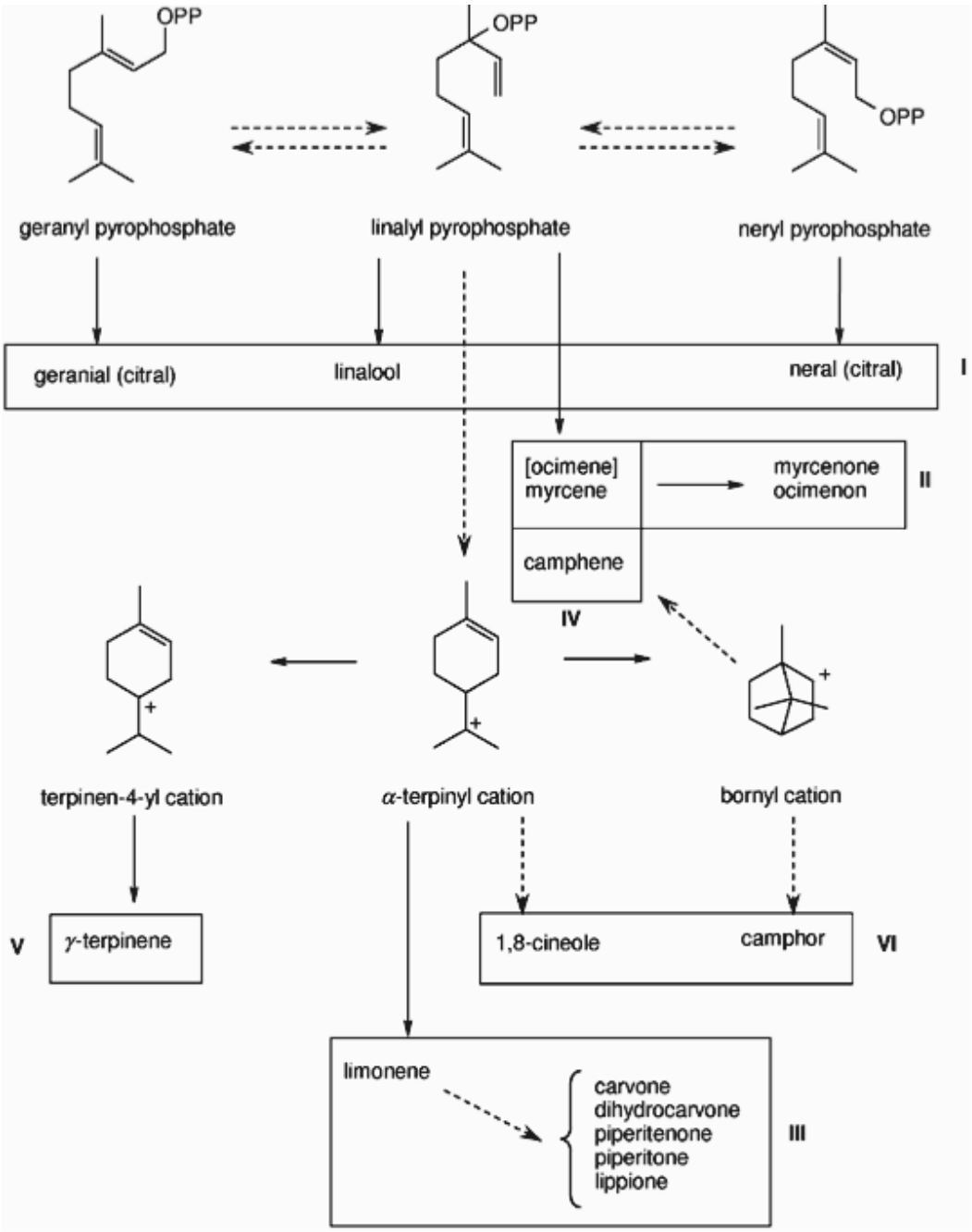

FIGURA 3. PRINCIPAIS ROTAS DA SÍNTESE DOS COMPOSTOS MONOTERPÊNICOS MAJORITÁRIOS DOS QUIMIOTIPOS I ATÉ VI DE *LIPPIA alba (*HENNEBELLE *et al.,* 2006).

2.3.3. Fatores que afetam a biosíntese de óleos essenciais

Para a *L. alba* existem diversos fatores que afetam a composição do óleo essencial. Têm-se observado uma grande variação dos constituintes do óleo essencial de *L. alba* dependendo do órgão da planta, o estado de desenvolvimento, localização geográfica (Celis, 2007), características do solo e clima (Stachenko *et al.,* 2004) e métodos de extração (Durán *et al.,* 2007).

Com relação à época de colheita de *L. alba,* Hernandez *et al.* (2004) mencionam que plantas mais jovens apresentam maior proporção de folhas em comparação com os ramos. Por outro lado, tem-se maior produção de matéria seca total após 4 meses de estabelecido o plantio, mas a planta tende a produzir mais ramos e diminuir seu número de folhas. Portanto, coletar plantas mais jovens com folhas novas é uma característica desejável que tem como objetivo principal obter maior produtividade de óleo essencial.

Mejía *et al.* (2007) avaliaram diversas frequências de corte (2, 3 e 4 meses) e alturas do corte (0, 15 e 25 cm) de *L. alba*, obtendo maior teor quando as plantas foram colhidas com 15 cm de altura após 3 meses. A produção de óleo essencial foi de 80,2 $L.ha^{-1}$ por corte e 320,7 $L.ha^{-1}$ por ano.

2.3.4. Aplicação do linalol na indústria

O linalol provém de diversas famílias de monocotiledôneas e dicotiledôneas, incluindo espécies como *Ocimum basilicum*, *Lavandula* spp. (Lamiaceae) (Landmann *et al.,* 2007); *Aniba rosaeodora*, *Cinnamomum camphora*, *Laurus nobilis* (Lauraceae) (Siani *et al.,* 2002); *Citrus aurantium* (Rutaceae) e *Vitis viniflora* (Vitaceae) (SIDS, 2002).

O linalol é um terpeno com um grupo álcool (Figura 4) e possui vários sinônimos como β-linalol, linalil álcool, óxido de linalol e p-linalol.

É usado na síntese de vitamina E, principal antioxidante celular, e também usado no processamento de alimentos e bebidas, na perfumaria e na produção de cosméticos e produtos de limpeza no lar devido às suas propriedades aromáticas (Raguso; Pirckersky, 1999). Ademais é utilizado no controle de pragas ectoparasitas e na fumigação de grãos (SIDS, 2002).

A indústria estima que a produção mundial de linalol no ano de 2000 foi de aproximadamente 12000 toneladas, sendo 6600 toneladas sintetizadas quimicamente e 5400 toneladas provenientes de terpenos naturais. A grande maioria do linalol extraído de fontes vegetais é utilizado na área de fragrâncias (SIDS, 2002).

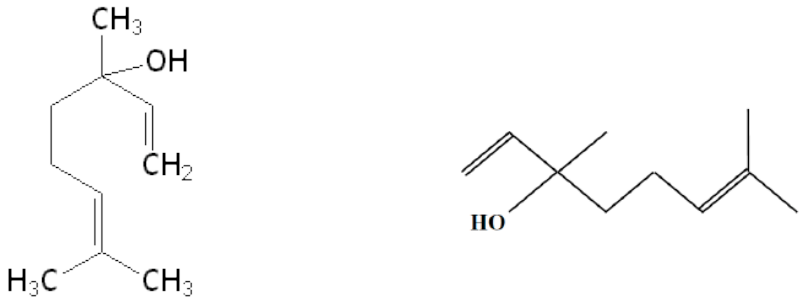

FIGURA 4. DIFERENTES FORMAS ESTRUTURAIS DA MOLÉCULA DE LINALOL

2.3.5. Comércio mundial de óleo essencial de *Lippia alba*

O óleo essencial de *L. alba* ainda não está classificado entre os códigos gerados por *The Harmonized Commodity Description System* (HS), sistema de classificação de óleos essenciais utilizado por mais de 179 países. Portanto, não há estatísticas de importações e exportações, nem disponibilidade dos volumes comercializados do óleo essencial de *L. alba* a nível mundial (UNCTAD, 2005).

Segundo Gutierrez *et al.* (2004), o preço de folhas secas de *L. alba* está entre 3,00 e 3,60 dólares o kilograma na Costa Rica, que tem uma produção anual de 2 t de folhas secas. Neste país as folhas secas são comercializadas em saches e no atacado. Entre as principais dificuldades na venda estão os problemas no mercado, falta de pesquisas farmacológicas e toxicológicas para obter um registro sanitário, além do preço baixo e demanda local pequena. O sache de 20 g custa aproximadamente 0,70 dólares e um frasco com 100 comprimidos custa 3,20 dólares.

No Brasil, a Empresa Herbia®, localizada em Joinville (SC), atualmente comercializa produtos de higiene pessoal e entre os constituintes dos produtos encontra-se o óleo essencial da *L. alba*. O valor dos produtos comercializados esta o shampú por 11,65 dólares, água perfumada 5,82 dólares, sabonete líquido 11,65 dólares e emulsão hidratante por 11,60 dólares (Krause, 2010).

REFERÊNCIAS

ALICE WEB. Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comercio Exterior. Disponível em: <http: //aliceweb.desenvolvimento.gov.br. Acesso em: 21 fev. 2010.

ANTOLINEZ-DELGADO, C.; RODRÍGUEZ- LÓPEZ, N. Plasticidade fenotípica de *Lippia alba* e *Lippia origanoides* (Verbenaceae): Respuesta a la disponibilidad de nitrogênio. **Acta Biológica Colombiana**, v.13, n.1, p.53-64, 2008.

ARAMBARRI, A.; FREIRE, S.; COLARES, M.; BAYON, N.; NOVOA, M.;MONTI, C.; STENGLEIN, S. Leaf anatomy of medicinal shrubs and tree from gallery forest of the paranaense province (Argentina) Part 1. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v.41, n.3-4, p.233-268, 2006.

AZCÓN-BIETO, J.; TALÓN, M. **Fundamentos de Fisiologia Vegetal**. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, p.522, 2000.

BARBOSA, F.; BARBOSA, L.; MELO, E.; MENDES, F.; SANTOS, R. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) n. e. Brown. **Química Nova**, v.29, n.6, p.1221-1225, 2006.

CELIS, C.N. **Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *Phyla* (*Lippia*) *dulcis*, espécies de la familia Verbenaceae**. 133 p. Trabalho de conclusão de curso (Facultad de Ciencia, Escuela de Química) Universidad Industrial de Santander, 2007.

CICCIÓ, J.; OCAMPO, R. Variación anual de la composición química del aceite esencial de *Lippia alba* (Verbenaceae) cultivada em Costa Rica. **Lankesteriana**, v.6, n.3, p.149-154, 2006.

COMBRINCK, S.; DU PLOOY, G.; McCRINDLE, R.; BOTHA, M. Morphology and histochemistry of the glandular tricomes of *Lippia escaberrima* (Verbenaceae). **Annals of Botany**, v.99, p.1111-1119, 2007.

DÍAZ, C.; PACHECO, J. **Utilización de plantas medicinales tropicales jaunilama *Lippia alba* (Mill.) Brown y zacate de limón *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., en la preparación de una bebida fria**. p.55. Tesis de grado (Ingeniería Agronómica). Universidad Earth, Costa Rica, 2000.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology,** v.135, p.1893-1902, 2004.

DURÁN, D.; MONSALVE, L.; MARTÍNEZ, J.; STASHENKO, E. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia, y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. **Scientia et Technica**, n.33, p. 435-438, 2007.

GUTIÉRREZ, M.A.; DUQUE, A.; CÁCERES, A.; BETANCOURT, Y. El mercado potencia de ocho plantas medicinales latinoamericanas. *Lippia alba*, *Lippia graveolens*, *Passiflora edulis*, *Petiveria alliacea*. *Phlebodium aureum*, *Quassia amara*, *Arrabidaea chica* y *Smilax domingensis*. **Desarrollo de Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterápicos. Estudio de Mercado**, p. 32, 2004.

HENNEBELLE, T.; SAHPAZ, S.; DERMONT, C.; JOSEPH, H.; BAILLEUL, F. The Essential Oil of *Lippia alba*: Analysis of Samples from French Overseas Departments and Review of Previous Works. **Chemistry and Biodiversity**, v.3, p.116-1125, 2006.

HERNANDÉZ, H.; BONILLA, C.; SÁNCHEZ, M. Efecto de la fertilización nitrogenada en la producción de biomasa y calidad de aceite esencial en *Lippia alba* (Miller), Pronto alivio. **Acta Agronómica**, v.53, n.1, p.20-25 2004.

IIJIMA, Y.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; FRIDMAN, E.; GANG, D. R.; BAR, E.; LEWINSOHN, E.; PICHERSKY, E. The Biochemical and molecular basis for the divergent patterns in the biosynthesis of terpenes and phenylpropenes in the peltate Glands of three Cultivars of Basil. **Plant Physiology**, v.136, p.3724–3736, 2004.

KRAUSE, R.A. Herbia Cosméticos Orgânicos e Terapêuticos. [Mensagem informativa]. Mensagem recebido por: <rafael@herbia.com.br >, em: 10/05/2010.

KUTCHAN, T.M. Ecological Arsenal and Developmental Dispatcher. The Paradigm of Secondary Metabolism. **Plant Physiology**, v.125, p.58–60, 2001.

LANDMANN, C.; FINK, B.; FESTNER, M.; DREGUS, M.; ENGEL, H.; SCHWAB, W. Cloning and functional characterization of three terpene synthase from lavender (*Lavandula angustifolia*). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.465, p.417-429, 2007.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**, Rima, p.531, 2004.

MEJÍA, O.; JULIO, M.; SÁNCHEZ, M.; BONILLA, C.; VANEGAS, P. Efecto de la altura y frecuencia de corte y secado en el rendimiento y calidad del aceite esencial de pronto alivio. **Scientia et Technica**, v.13, n.33, p.253-255, 2007.

METLEN, K.; ASCHEHOUG, E.; CALLAWAY R. Plant behavioural ecology: Dynamic plasticity in secondary metabolites. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.641-653, 2009.

MONTIEL, J.; MESA, A.; DURAN, C.; BUENO, J.; BETANCUR, L.; STASHENKO, H. Evaluación de la actividad anti-*Candida* e anti-*Aspergillus* de aceites esenciales de *Lippia alba* (Miller) N.E. Brown quimiotipo carvona- limoneno y su asociación com sus compuestos mayoritarios. **Scientia et Technica** , v.13, n.33, 2007.

OLIVEIRO-VERDEL, J.; GÜETTE-FERNANDEZ, J.; STASHENKO, E. Acute toxicity against *Artemia franciscana* of essential oils isolated from plants of the genus *Lippia* and *Piper* collected in Colombia. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**. Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica. Chile. v.8, n.5, p.419-427, 2009.

PALÁCIO-LOPÉZ, K.; RODRÍGUEZ-LOPÉZ, N. Plasticidad fenotípica en *Lippia alba* (Verbenaceae) en respuesta a la disponibilidad hídrica en dos ambientes lumínicos. **Acta Biológica Colombiana**, v.12, n.5, p.187-198, 2007.

PIMENTA, M.; FERNANDES, L.; PEREIRA, U.; GARCIA, L.; LEAL, S.; LEITAO, S.; SALIMENA, F.; VICCINI, L.; PEIXOTO, P. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.3, n.2, p.211-220, 2007.

RAGUSO, R.; PICKERSKY, E. New perspective in pollination biology: Floral fragrances. A Day of life in the life of linalool molecule: Chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: Linalool biosynthesis in flowering plants. **Plant Species Biology**, v.14, p.95-120, 1999.

RUEDA, S.; CARDENAS, C.; MARTÍNEZ, J.; STASHENKO, E. Estudio de la variación circadiana de los metabolitos secundarios volátiles obtenidos por destilación- solvente simultanéa, de hojas de *Lippia alba* (Fam: Verbenaceae). **Scientia et Technica**, v.13, n.33, p.83-85, 2007.

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

SANTOS M. R. A.; INNECO R. Adubação orgânica e corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.182-185, 2004.

SANTOS, M.R.A.; INNECO, R.; SOARES, A. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Revista Ciência Agronômica**, v.35 n.2, p.377-383, 2004.

SIANI, A.; TAPPIN, M.; RAMOS, M.; MAZZEI J.; RAMOS M.; AQUINO F.; FRIGHETTO N. Linalool from *Lippia alba*: Study of the Reproducibility of the Essential Oil Profile and the Enantiomeric Purity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3518−3521, 2002.

STASHENKO, E.; JARAMILL, B.; MARTINEZ, J. Comparison of different extraction methods for the analysis of secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation its in vitro antioxidant activity. **Journal of chromatography**, v.1025, p.93-103, 2004.

SIDS, Initial Assessment Report: Linalool. 2002. Disponível em: <www.inchem.org/documents/sids/sids/78706.pdf > Acesso em: 2 de novembro 2009.

UNCTAD, The United Nations Conference on Trade and Development. Market Brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native species: *Lippia alba*, 2005. Disponivél em: http://www.unctad.org/biotrade/docs/biotradebrief-lippiaalba.pdf. Acesso em: 02 fev. 2010.

VIT, P.; SILVA, B.; MELÉNDEZ, P. *Lippia alba* N.E.Br. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela. **Revista de la Facultad de Farmácia**, v.43, n.2, p.13-14, 2002.

VIT, P.; SILVA, B.; MELENDEZ, P. Carpet grass. **Bee World**, v.1, n.84, p.35-37. 2003.

YAMAMOTO, P.; COLOMBO, C.; AZEVEDO, J.; LOURENÇÃO, L.; ORTIZ, M.; DOMINGUES, G.; CHIORATO, A.; MELLO, M. A.; SIQUEIRA, W. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Journal of Agricultural Science**, v.65, n.5, p.481-489, 2008.

3. CAPITULO I – ACÚMULO DE BIOMASSA DE *Lippia alba,* QUIMIOTIPO LINALOL, E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL NO PRIMEIRO CORTE

RESUMO

A *Lippia alba* tem sido agrupada em quimiotipos dependendo da composição química do seu óleo essencial. Um dos quimiotipos em destaque é o linalol usado principalmente na síntese de vitamina E e na perfumaria. Avaliou-se a produtividade e o acúmulo de biomassa de nove procedências de *L. alba,* quimiotipo linalol, na Estação Experimental do Canguiri, Pinhais - PR. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 4 repetições. Cada unidade experimental foi constituída por 6 plantas. Determinou-se o número de ramos, comprimento e número de folhas do ramo principal em intervalos sucessivos de 15 dias a partir de 80 dias do plantio. O acúmulo de massa seca de folhas e total, a produção de óleo essencial e linalol foram avaliados após 150 dias. Destacou-se a procedência "Lavras", pela produção superior de folhas no ramo principal e maior massa seca em ramos e folhas. O maior teor foi obtido com a procedência "Muzambinho" com 12,94 µL. g M.S.$^{-1}$. No entanto a maior produtividade do óleo essencial e linalol foram obtidas pela procedência de "Lavras" com 10,17 L.ha^{-1} e 8,30 L.ha^{-1}, respectivamente. Quanto às concentrações de linalol, a procedência "Brasília 2" apresentou maior teor de linalol no óleo essencial 92,10%. Além do linalol foram identificados no primeiro corte 1-8 cineol (0,40-6,55%), trans-cariofileno (1,02-3,70%) e oxido de cariofileno (2,00-3,15%).

Palavras chaves: Erva-cidreira, procedência, acúmulo de massa, folhas, digestiva, linalol.

ABSTRACT

Lippia alba is classified into different chemotypes depending on the percentage of essential oil compounds. The linalool chemotype is used in the synthesis of vitamin E and also in the perfume industry. The productivity and accumulated biomass of nine treatments of the *L. alba* chemotype linalool were evaluated and the field experiments were implemented at the Experimental Station of Canguiri Centre, Pinhais, PR, Brazil. The number of leaves belonging to the principal stem, the height of the principal stem and the number of stems on each plant were measured during five consecutive dates over 150 days. The field was harvested after five months and the dry leaf and stem mass was quantified, along with the extraction of the essential oil from the leaves through hydrodistillation with a Clevenger apparatus during 2 hours. The “Lavras” material showed a higher dry leaf and stem mass, while “Muzambinho” obtained a higher yield with 12,94 µL. g M.S.^{1}. A higher productivity and linalool yield was obtained in “Lavras” with 10,17 L.ha^{-1} and 8,30 L.ha^{-1}, respectively. A higher linalool concentration was reached by “Brasília 2” with 92, 10% of the essential oil. Different essential oil constituents were identified, including 1-8 cineol (0,40-6,55%), trans-cariofilene (1,02-3,70%) and cariofilene oxide (2,00-3,15%) with concentrations above 1%.

Key Words: Bushy lippia, biomass accumulated, leaves, digestive, linalool.

3.1. INTRODUÇÃO

Lippia alba é uma importante espécie na medicina popular, usada frequentemente como sedativa, antidepressiva, analgésica, antiespasmódica, digestiva e antiinflamatória (UNCTAD, 2005; Hennebelle *et al.,* 2006).

Esta espécie apresenta plasticidade fenotípica que permite a sua adaptação as variações ambientais dos diferentes países da América Latina onde se desenvolve (Palácio-Lopéz; Rodriguez-Lopéz, 2007). A espécie *L. alba* pode adaptar sua morfologia e fisiologia, permitindo-lhe enfrentar ambientes heterogêneos. Entre as adaptações encontra-se a capacidade de sintetizar diferentes metabólitos secundários (Durán *et al.,* 2007).

O óleo essencial de *L. alba* é de interesse devido à grande variedade de quimiotipos. Os quimiotipos de *L. alba* são selecionados em função das diferenças no constituinte majoritário do óleo essencial, tais como linalol, carvona, geraniol, nerol, mirceno, limoneno, citral (Pimenta *et al.,* 2007).

Segundo Hennebelle *et al.* (2006), um total de sete quimiotipos foram determinados para o óleo essencial de *L. alba*. O quimiotipo I inclui o linalol como composto majoritário, este constituinte é usado na indústria de alimentos, cosméticos, perfumaria e farmacológica (Klueger *et al.,* 1996) e na síntese de vitamina E (Raguso; Pichersky, 1999).

O presente trabalho teve como objetivo comparar o acúmulo de biomassa e produtividade do óleo essencial em nove procedências de *L. alba,* quimiotipo linalol, no primeiro corte, nas condições de Pinhais – PR, Região Metropolitana de Curitiba.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Área de estudo

O experimento foi realizado entre novembro de 2008 e maio de 2009 na Estação Experimental do Canguiri (EEC), da Universidade Federal do Paraná – UFPR, na Região Metropolitana de Curitiba, Pinhais, PR. Localiza-se à 25º23'13″ Sul e no meridiano 49º07'43″ Oeste de Greenwich, a 900 m de altitude, a área está inserida dentro da APA do Iraí.

O clima regional é classificado como Cfb, segundo a classificação de Köeppen, com temperatura média anual de 18ºC, sendo que a temperatura média do mês mais quente é superior a 24ºC e a do mês mais frio é de 13ºC, com verões frescos, geadas freqüentes, sem estação seca definida e com precipitação média anual de 1.451 mm (Maack, 2002).

As condições climáticas (temperatura, umidade relativa e precipitação) durante o período de condução do experimento foram fornecidas pela estação meteorológica do SIMEPAR em Pinhais (Figura 5 e Figura 6).

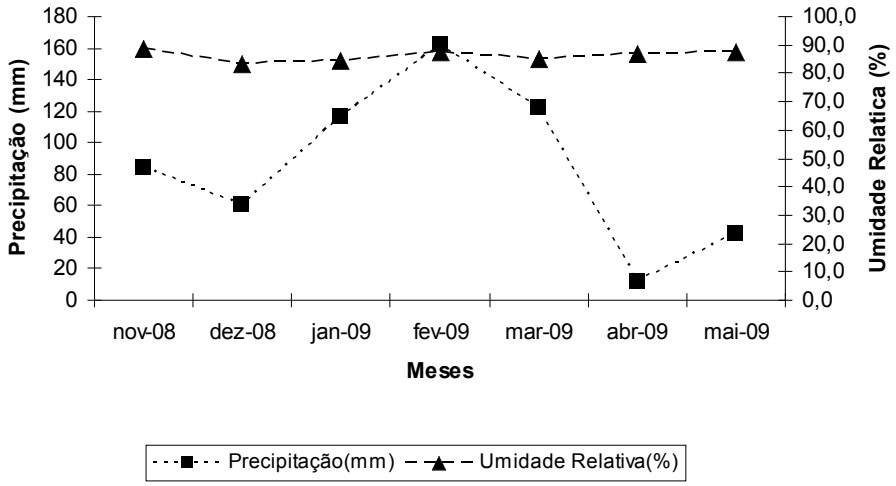

FIGURA 5 PRECIPITAÇÃO E UMIDADE RELATIVA DURANTE O EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, PINHAIS – PR, 2009.

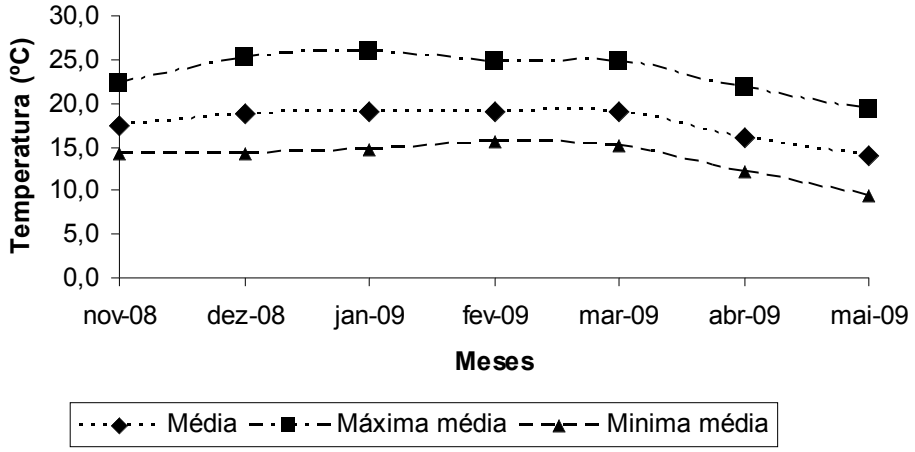

FIGURA 6 MÉDIAS DE TEMPERATURA MÉDIA, MÁXIMA E MÍNIMA MENSAL DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*,QUIMIOTIPO LINALOL, PINHAIS –PR, 2009.

3.2.2. Análise do solo

A análise das características químicas do solo foi realizada pela metodologia da Comissão de Química e Fertilidade do Solo de RS e SC (2004). As amostras foram coletadas na profundidade de 0-20 cm em Julho de 2008 e analisadas no Laboratório de Fertilidade do solo do Departamento de Solos da UFPR, seguindo a metodologia de Pavan *et al.* (1992), Tabela 1.

TABELA 1- RESULTADO DA ANÁLISE DO SOLO NA ÁREA EXPERIMENTAL NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR. NA PROFUNDIDADE DE 0-20 CM, 2008.

pH	Al^{+3}	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^{+}	SB	T	P	C	V	Areia	Silte	Argila
$CaCl_2$	$cmol_c/dm^3$						Mg/dm^3	g/dm^3	%	g/Kg		
6,40	0,00	12,60	2,80	1,32	16,72	19,42	350,00	29,9	86	115,5	534,5	350,0

3.2.3. Adubação

A correção da fertilidade da área foi feita com base na recomendação da comissão de química e fertilidade do solo (2004) para a cultura do capim-limão, foram aplicados 136 $Kg.ha^{-1}$ de nitrogênio na forma de uréia, dois dias antes de estabelecido o plantio.

3.2.4. Material vegetal e preparo de mudas

Para o experimento foram utilizadas nove procedências de *L. alba* fornecidas pela Universidade de Brasília (Januzzi, 2006), que foram avaliadas previamente quanto aos teores de linalol no óleo essencial. Os teores de linalol variaram entre as procedências de 58,84 a 82,96% (Tabela 2). O material vegetal foi selecionado devido a ser o disponível em casa de vegetação e por apresentar os maiores teores de linalol entre outros materiais.

TABELA 2 NOVE PROCEDÊNCIAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA, 2009.

Tratamento	**Procedência**	
	Cidade	**Estado**
1	Brasília 1	DF
2	S. Gonçalo do R. Abaixo	MG
3	Cruzeiro / Grande	DF
4	Brasília 2	DF
5	Lavras	MG
6	Luminárias	MG
7	Luziânia	GO
8	Muzambinho	MG
9	Piracicaba	SP

O material vegetal foi multiplicado por meio de estaquia, com aproximadamente 15 cm de comprimento e 0,7 cm de diâmetro mantendo-se duas folhas cortadas pela metade. Durante o preparo as estacas foram mantidas em água sendo posteriormente transferidas para tubetes de 115 cm^3 contendo como substrato 50% areia e 50% terra. As estacas permaneceram 40 dias em condições de casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR, com irrigação controlada.

As mudas foram levadas a campo após 40 dias da estaquia na Estação Experimental do Canguiri, Pinhais- PR.

3.2.5. Plantio e colheita

A distribuição em campo das procedências foi com o uso da tabela de números aleatórios (Amostragem Aleatória Simples AAS). A área experimental tinha 63,75 m^2, o tamanho de cada parcela era de 0,75m^2, foram implantadas 8 plantas por

parcela, mas foram usadas 6 plantas úteis por parcela na avaliação do experimento em espaçamento 1m x 1m (Figura 7).

Para a bordadura foram usadas as mesmas plantas do tratamento vizinho. Realizaram-se duas capinas para o controle de plantas não desejadas. Os ramos foram tutorados a partir dos vinte cinco dias de estabelecido o plantio. Estes foram conduzidos usando uma estaca de 1,5 metros de altura e amarrando os ramos a esta.

A partir de 80 dias de implantado o experimento, foram mensurados três variáveis em intervalos sucessivos de 15 dias: o número de ramos, número de folhas do ramo principal e comprimento do ramo principal. Na primeira avaliação, foi marcado o ramo principal, para que nas avaliações seguintes fosse utilizado o mesmo ramo. Para o número de folhas foram contadas aquelas que apresentaram mais de 7 cm de comprimento laminar por serem consideradas folhas adultas (Vit *et al.,* 2002). O número de ramos foi determinado contando aqueles com mais de 20 cm de comprimento. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em parcelas subdivididas no tempo, sendo avaliadas 9 procedências em 5 períodos, com 4 repetições e 6 plantas por parcela espaçamento 1m x 1m.

Aos 150 dias após o plantio, as plantas foram cortadas a 15 cm de altura, segundo a recomendação de Mejía *et al.* (2007). O acúmulo de massa seca de folhas e ramos, teor e produtividade de óleo essencial e linalol das procedências foi analisado. em um delineamento experimental em blocos ao acaso com 9 tratamentos, 4 repetições, e 6 plantas por parcela.

A extração de óleo essencial foi realizada com 100 gramas de folhas frescas coletadas aleatoriamente das 6 plantas de cada parcela, as quais foram submetidas à hidrodestilação em aparelho graduado tipo Clevenger durante duas horas. A quantificação do óleo essencial foi realizada utilizando-se micropipetas de precisão (100- 1000 µL). O óleo essencial foi armazenado em tubo eppendorf a -20 ºC, onde permaneceu até o momento da analise cromatográfica.

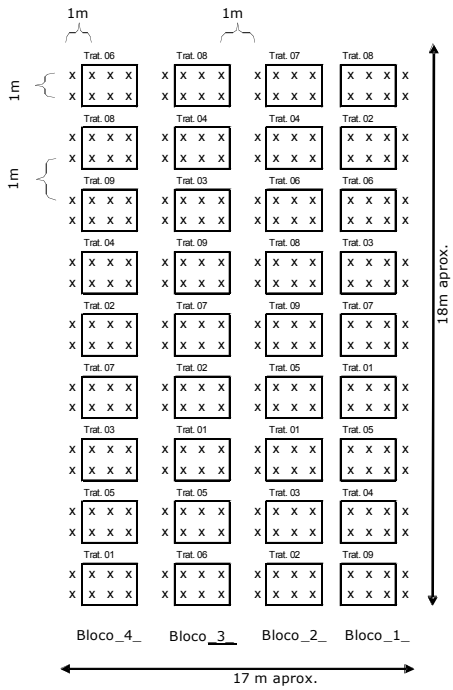

FIGURA 7 CROQUI DO CULTIVO DAS NOVE PROCEDENCIAS DE *L. alba* TRANSPLANTADAS NO DIA 10/DEZ/2008 NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR.

Para a determinação dos teores de óleo essencial, massa seca de ramos e folhas em base seca, as amostras foram mantidas em estufa (marca Nova Ética Serie 400ND) a 45°C com ventilação forçada até atingir massa seca constante.

3.2.6. Análise química do óleo essencial

A caracterização química do óleo essencial das folhas de *L. alba* foi realizada pela EMBRAPA, Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro. A quantificação dos constituintes foi feita por meio de cromatografia em fase gasosa, utilizando-se equipamento Agilent 6890N, com detector de ionização por chama (FID), operando a 250ºC e uma coluna HP5 (30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de filme líquido), com hidrogênio como gás de arraste (1,0 mL min. $^{-1}$). Foi injetado 1,0 µL de amostra em injetor aquecido a 250ºC operando no modo com divisão de fluxo (1:20). A programação de temperatura do forno foi de 60ºC a 240ºC, a uma taxa de aquecimento de 3ºC min.$^{-1}$ por 50 min de tempo total da corrida. Para a quantificação foram utilizados os valores de área normalizada, expressos em porcentagens.

Os espectros de massas foram obtidos em cromatógrafo Agilent 6890N acoplado ao detector seletivo de massas Agilent 5973N, equipado com uma coluna

capilar HP5MS (30 m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25 µm de filme liquido) utilizando hélio como gás carregador (1,0 $ml.min^{-1}$), nas mesmas condições utilizadas acima. O detector foi operado no modo impacto de elétrons, com energia de ionização de 70eV. Os índices de retenção para o óleo essencial das folhas foram calculados após a injeção de uma série homóloga de *n*-alcanos, nas mesmas condições utilizadas para as amostras. A identificação dos constituintes do óleo foi realizada por comparação dos índices de retenção calculados com os valores da literatura (Adams, 2001) e pela comparação dos espectros de massas obtidos com o uso da biblioteca Wiley 6th edition.

3.2.7. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas pela análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa ASSISTAT versão 7.5 beta (Silva; Azevedo, 2006). As variâncias foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Realizou-se também uma analise de correlação linear simples entre os parâmetros analisados. Os critérios estabelecidos por Shimakura e Ribeiro Junior (2010), foram os usados para a interpretação dos resultados obtidos.

TABELA 3. ÍNDICE DE CORRELAÇÃO UTILIZADO NO EXPERIMENTO DE ACORDO COM INTERPRETAÇÃO DE SHIMAKURA E RIBEIRO JUNIOR (2006).

Valor de correlação (+ ou -)	Interpretação de correlação
0,00 a 0,19	Bem Fraca
0,20 a 0,39	Fraca
0,40 a 0,69	Moderada
0,70 a 0,89	Forte
0,90 a 1,00	Muito Forte

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Acúmulo de biomassa

Não houve interação entre as nove procedências e os períodos de avaliação (Anexo 1, 2 e 3). As médias e o desvio padrão do comprimento do ramo principal, número de ramos e número de folhas do ramo principal das procedências de *L. alba*, quimiotipo linalol são apresentados nas Figura 8, Figura 9 e Figura 10, respectivamente.

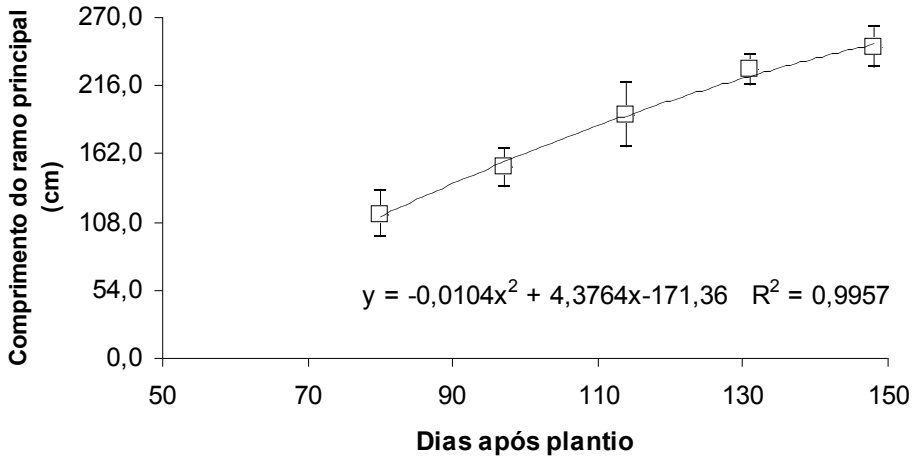

FIGURA 8. COMPRIMENTO DO RAMO PRINCIPAL DAS PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, AVALIADAS DURANTE CINCO PERIODOS CONSECUTIVOS, NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS –PR, 2009.

Nos períodos de avaliação, o comprimento do ramo principal variou de 89.25 na primeira avaliação a 283,50 cm na última avaliação; com tendência de aumentar em cada data de avaliação. O número de ramos variou de 2,33 a 11,75 apresentando uma tendência a estabilizar-se nas duas ultimas avaliações. E o número de folhas no ramo principal variou de 18,25 a 49,50; com tendência a aumentar em cada uma das avaliações.

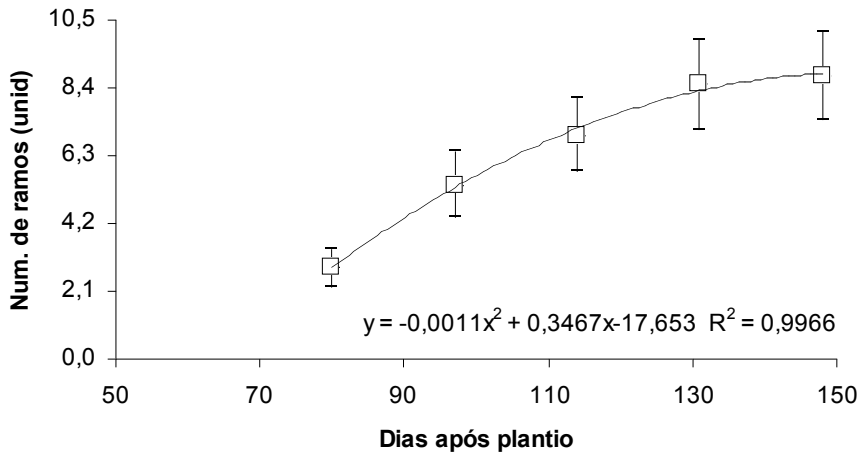

FIGURA 9. NÚMERO DE RAMOS DAS PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, AVALIADAS EM CINCO PERIODOS CONSECUTIVOS. NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, 2009.

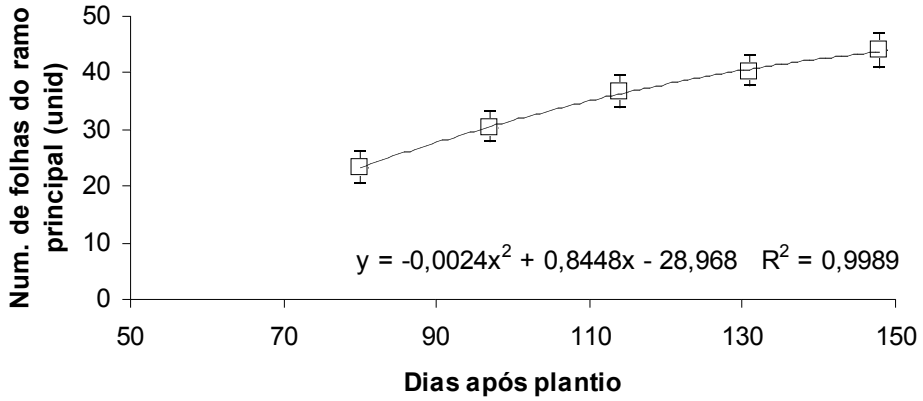

FIGURA 10. NÚMERO DE FOLHAS DO RAMO PRINCIPAL DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, AVALIADAS DURANTE CINCO PERIODOS CONSECUTIVOS IMPLANTADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, 2009.

Houve a tendência ao aumento com relação aos três parâmetros analisados. Os três parâmetros se ajustaram bem a uma regressão polinomial de segunda ordem com um R^2 de 0,99. Descrevendo assim que, nas três variáveis e suas equações de regressão ajustadas ao conjunto de dados colhidos demonstraram um aumento com o passar do tempo.

Os desvios padrões variaram 11,81 a 25,32 para o comprimento do ramo principal, 0,58 a 1,37 no número de ramos por planta e 2,57 a 2,98 no número de folhas do ramo principal. Apresentando os maiores desvios padrão no parâmetro número de ramos, o qual indica a maior divergência na quantidade de ramos entre as nove procedências durante as cinco épocas avaliadas.

Por outra parte na analise na ultima avaliação aos 150 dias houve pouca diferença estatística no comprimento do ramo principal entre as procedências de *L. alba* (Tabela 4). A procedência “Lavras” apresentou maior comprimento no ramo principal (283,50 cm) em relação às procedências, com exceção às procedências “Brasília 1” e “Cruzeiro/Grande” cujas médias não diferiam estatisticamente.

Com relação ao número de ramos por planta, a procedência “Brasília 2” obteve média superior (11,75) às procedências, exceto para as procedências “Brasília 1” e “Lavras”. (Tabela 4), porém sem diferenças estatísticas amplas entre procedências.

O número de folhas do ramo principal na última avaliação não diferiu entre procedências (Tabela 4). A procedência “Lavras” embora com maior número de folhas em relação à maioria das procedências, não apresentou diferenças significativas com as procedências “Cruzeiro/Grande”, “Piracicaba”, “Brasília 1” e “Brasília 2”.

TABELA 4 MÉDIA DO COMPRIMENTO DO RAMO PRINCIPAL, NÚMERO DE RAMOS E NÚMERO DE FOLHAS DO RAMO PRINCIPAL AOS 150 DIAS APÓS O PLANTIO DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS- PR. (MARÇO-ABRIL/09).

Procedência		**Comp. ramo principal (cm)**	**Nº ramos por planta**	**Nº folhas no ramo principal**
Cidade	**Estado**			
Brasília 1	DF	256,83 ab	8,55 ab	43,92 abc
S. Gonçalo do R. Abaixo	MG	236,75 b	8,49 b	41,42 bc
Cruzeiro / Grande	DF	245,67 ab	8,46 b	47,00 ab
Brasilia 2	DF	238,75 b	11,75 a	43,00 abc
Lavras	MG	283,50 a	9,75 ab	49,50 a
Luminárias	MG	252,50 b	7,64 b	42,08 bc
Luziânia	GO	236,42 b	8,67 b	42,63 bc
Muzambinho	MG	237,08 b	6,98 b	39,92 c
Piracicaba	SP	230,83 b	8,71 b	45,42 abc
	CV %	14,69	33,87	15,95

Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05%).

A procedência “Lavras” apresentou características destacáveis nos três parâmetros avaliados (comprimento do maior ramo, número de ramos e número de folhas do ramo principal), porém sem diferença estatística nas parcelas subdivididas no tempo.

Todas as procedências selecionadas apresentaram um crescimento prostrado o qual dificultou a capina manual. Esta característica no crescimento concorda com Januzzi (2006), que observou que as procedências do quimiotipo linalol apresentaram características similares nos seus ramos.

O habito de crescimento da *L. alba* é prostrado o qual faz parte da genética da planta, portanto, é um fato inexorável e deve ser considerado no momento de trabalhar com esta espécie, especificamente com este quimiotipo.

Nas condições de Pinhais –PR foram obtidos valores entre 230,83 a 283,50 cm no comprimento do ramo principal. Estudos realizados por Januzzi (2006), conduzido em Brasília- DF, nos meses de janeiro a março de 2006, o comprimento dos ramos após 155 dias de crescimento das plantas foi de 275 cm na procedência "Brasília 1" e de 176 cm na procedência "Lavras", sendo que os maiores comprimentos foram observados nas procedências com altos teores de linalol. Assim como observado nas condições de Brasília, as procedências "Lavras" e "Brasília 1" também apresentaram destaque em relação a está característica.

3.3.2. Massa seca de folhas e ramos

Houve diferenças significativas na massa seca de folhas e ramos entre as procedências. A massa seca de folhas variou de 52,18 a 94,55 g. planta^{-1} e em ramos a massa seca variou de 134,26 a 271,95 g. planta^{-1}(Tabela 5).

TABELA 5 MÉDIAS DA MASSA SECA (MS) DE FOLHAS E RAMOS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, COLHIDAS ÁPOS 150 DIAS, (MAI/09).

Procedência		**MS Folhas (g.planta^{-1})**	**MS Ramos (g.planta^{-1})**	**MS folhas (Kg.ha^{-1})**	**Relação MS Folhas / MS Total**
Cidade	**Estado**				
Brasília 1	DF	88,59 ab	243,43 ab	885,93 ab	0,27 ab
S. Gonçalo do R. Abaixo	MG	78,37 bc	200,30 cd	783,72 bc	0,28 a
Cruzeiro / Grande	DF	79,14 bc	215,23 bc	791,43 bc	0,27 ab
Brasilia 2	DF	68,39 cd	167,26 e	683,95 cd	0,29 a
Lavras	MG	94,55 a	271,95 a	945,54 a	0,26 ab
Luminárias	MG	76,15 c	219,91 bc	761,55 c	0,26 ab
Luziânia	GO	57,48 de	174,75 de	574,85 de	0,25 b
Muzambinho	MG	52,18 e	134,26 f	521,80 e	0,28 ab
Piracicaba	SP	68,28 cd	166,83 e	682,80 cd	0,29 a
	CV %	6,70	6,05	6,70	5,22

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05%).

A procedência “Lavras” apresentou maior acúmulo de massa seca de folhas e ramos sem diferença estatística apenas da procedência “Brasília 1”. Porém “Brasília 1” não se diferenciou de “São Gonçalo do R. Abaixo” e “Cruzeiro/Grande” para a massa seca de folhas (Tabela 5). A procedência “Muzambinho” apresentou massa seca de ramos inferior a todas as procedências e também a menor massa seca de folhas, não diferindo da “Luziânia”.

Houve pouca variação entre as procedências para a relação massa seca folhas/massa seca total, mas as procedências “São Gonçalo do Rio Abaixo”, “Brasília 2” e “Piracicaba” foram superiores a “Luziânia” (Tabela 5).

As médias de massa seca de folhas por planta observadas neste trabalho são inferiores às obtidas por Januzzi (2006), cuja média foi de 112,49 g·planta^{-1}. Com relação ao maior valor de massa seca de folhas Kg. hectare^{-1}, em Pinhais foi de 945,54 Kg.ha^{-1} e Januzzi (2006), obteve 562,45 Kg. ha^{-1}. Essa diferença ocorreu pelos diferentes espaçamentos utilizados, 1,00 m^2 em Pinhais e de 4,00 m^2 em Brasília com Januzzi (2006).

Segundo Swetman (2008), a colheita em época inadequada pode interferir no teor ou na qualidade do óleo essencial. No experimento, a relação entre massa seca de folhas versus massa seca total esteve entre a faixa de 0,25 a 0,29, que representa uma baixa relação de massa seca de folhas em relação à massa seca total da planta, portanto existe uma alta produção de ramos em comparação à baixa quantidade de folhas presentes na planta. Para *Ocimum basilicum* se tem registro que uma boa relação entre massa seca de folhas/massa seca total esta em 0,5 (Ereno, 2006)

O comportamento apresentado pelas procedências é produto da interação das características climáticas influenciando no teor e produtividade do óleo essencial (Stefanini *et al.,* 1998).

Os fatores ambientais como a temperatura atua diretamente em processos primários, como a fotossíntese e a respiração e podem influenciar indiretamente a produção de metabólitos secundários, cuja síntese depende de produtos do metabolismo primário (Sangwan *et al.,* 2001). Além disso, a intensidade luminosa

pode influenciar a produção de óleos essenciais através da ativação de enzimas fotossensíveis envolvidas na rota do ácido mevalônico (Taiz e Zeger 1991). Em folhas de *Salvia officinalis* o teor e a composição do óleo essencial mudaram mensalmente, com o máximo atingido em julho e a maior porcentagem de tujone foi observado no mês de outubro (Sangwan *et al.,* 2001).

Stefanini *et al.* (1998), em Botucatu- SP, avaliando a influencia de reguladores de crescimento na produção de biomassa e teores de óleo essencial em *L. alba* em diferentes épocas do ano, obtiveram maior acúmulo de biomassa em folhas ao longo do período do verão com o uso do GA_3 (50 ppm), em comparação com as outras estações.

3.3.3. Teor, produtividade de óleo essencial e porcentagem de linalol

Foram observadas diferenças estatísticas entre as nove procedências com relação ao teor e produtividade de óleo essencial. O teor do óleo essencial variou de 5,35 a 12,94 µL.g MS^{-1} e a produtividade do óleo essencial de 4,74 a 10,17 $L.ha^{-1}$(Tabela 6).

TABELA 6 MÉDIAS DO TEOR E PRODUTIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL (OE) E PORCENTAGENS DE LINALOL DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, AVALIADOS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA.

Procedência		**Teor do OE**	**Produtividade do OE**	**Teor de linalol**	**Produtividade de linalol**
Cidade	**Estado**	**µL.g M.S.** $^{-1}$	**L.ha**$^{-1}$	**%**	**L.ha**$^{-1}$
Brasília 1	DF	5,35 c	4,74 c	72,16 b	3,45 d
S. Gonçalo do R. Abaixo	MG	9,17 b	7,19 bc	83,70 ab	6,01 abc
Cruzeiro / Grande	DF	10,81 ab	8,55 ab	75,77 b	6,46 ab
Brasilia 2	DF	7,98 bc	5,45 c	92,10 a	5,04 bcd
Lavras	MG	10,74 ab	10,17 a	81,60 ab	8,30 a
Luminárias	MG	10,68 ab	8,12 ab	77,70 ab	6,33 ab
Luziânia	GO	8,78 b	5,02 c	74,83 b	3,75 cd
Muzambinho	MG	12,94 a	6,81 bc	76,29 b	5,22 bcd
Piracicaba	SP	9,75 b	6,65 bc	78,12 ab	5,18 bcd
	CV %	12,86	15,52	7,60	18,08

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey (P<0,05%).

O maior teor de óleo essencial de folhas foi observado nas procedências “Muzambinho” (12,94 µL.g $M.S.^{-1}$), sem diferença estatística com as procedências “Cruzeiro/Grande”, “Lavras” e “Luminárias”. Os menores teores por sua vez foram

obtidos nas procedências “Brasília 1” (5,35 µL.g M.S.$^{-1}$) e “Brasília 2” (7,98 µL.g M.S.$^{-1}$), não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 6).

A maior produtividade do óleo essencial foi observada na procedência “Lavras” (10,17 L.ha^{-1}) não diferindo das procedências “Cruzeiro/Grande” e “Luminárias”. A procedência “Lavras” apresentou resultado superior devido ao maior acúmulo de massa seca de folhas e teor de óleo essencial. A menor produtividade foi obtida na procedência “Brasília 1” (4,74 L.ha^{-1}), não diferindo das procedências “São Gonçalo do R. Abaixo”, “Brasília 2”, “Luziânia”, “Muzambinho” e “Piracicaba” (Tabela 6).

Nestas condições os valores de produtividade estiveram entre 4,74 a 10,17 L.ha^{-1} (Tabela 6), comparando com Januzzi (2006) as procedências do quimiotipo linalol obtiveram produtividades de 1,36 a 1,88 Kg.ha^{-1}, apontando assim, uma tendência maior na produtividade nas condições de Pinhais pelas diferenças edafoclimáticas e pelo espaçamento menor de 1m^2.

Relacionando a massa seca de folhas com o teor pode-se observar que a procedência de “Muzambinho” obteve um alto valor no teor do óleo essencial, mas obteve baixa produção de massa seca de folhas. Januzzi (2006) observou nas procedências uma correlação negativa entre a massa seca foliar e teor de óleo essencial.

A produtividade de óleo essencial obtida com as procedências de *L. alba* é considerada baixa quando comparado com outras espécies aromáticas. Um fator importante que pode ter contribuído é o período entre o plantio e a colheita (150 dias), onde a idade avançada das folhas levou à diminuição da produção do óleo essencial. Somado a isto, Castro *et al.* (2002) registram diferenças nas porcentagens do composto majoritário do óleo essencial das folhas conforme a localização das folhas nos ramos (apical, mediana e basal).

Outro fato que pode ter influenciado na produtividade do óleo obtido foi o horário da colheita. No experimento, a colheita foi realizada no período da manhã (entre 9 às 11 horas). Para Santos *et al.* (2004), nas condições climáticas de Pentecoste – CE, entre os meses de maio e novembro de 2002, maiores produtividades de óleo essencial de *L. alba* foram obtidas em colheitas realizadas às 15 horas.

Houve diferença significativa quanto à porcentagem de linalol no óleo essencial das procedências de *L. alba*, variando de 72,16% a 92,10%. A procedência “Brasília 2” apresentou maior porcentagem, porém sem diferenças significativas entre as procedências “Lavras”, “S. Gonçalo do R. Abaixo”, “Luminárias” e “Piracicaba” (Tabela 6). Elevados teores de linalol (89 ± 9 % de linalol) também foram apontados por Siani *et al.* (2002), em *L. alba* procedente de Brasília.

Os teores de linalol no óleo essencial de *L. alba* avaliado por Januzzi (2006), encontraram-se entre 69,3 a 89,4%. Estes são diferentes aos teores do linalol quantificados na Estação Experimental do Canguiri, que estiveram entre 72,16 a 92,10% (Tabela 6).

Todas as procedências do quimiotipo linalol apresentaram uma porcentagem deste constituinte acima dos 70% na primeira colheita (Tabela 6). Segundo Hennebelle *et al.* (2006) e Tavares *et al.* (2005), as características do solo ou do ambiente não modificam o composto majoritário que constitui o óleo essencial, mas para Castro *et al.* (2002), as características do solo interfere na porcentagem de óleo essencial.

Portanto, estabelece-se que a presença dos diferentes teores do composto majoritário no óleo essencial da *L. alba* são o resultado das variações genéticas intra-específicas nas populações da espécie (Tavares *et al.,* 2005). Siani *et al.* (2002), atribuem as diferenças nos conteúdos dos constituintes majoritários aos fatores abióticos como luz, temperatura, água, solo e altitude que afetam o acúmulo de biomassa e a biosíntese de certos constituintes vegetais, especialmente os terpenos.

A produtividade de linalol $L.ha^{-1}$ (Tabela 6), foi estatisticamente diferente entre as procedências. A procedência “Lavras” apresentou maior média (8,30 $L.ha^{-1}$), não diferindo estatisticamente de “S. Gonçalo do R. abaixo”; “Cruzeiro-Grande” e “Luminárias”. A menor média foi obtida na procedência “Brasília 1” (3,45 $L.ha^{-1}$) não diferindo das procedências “Brasília 2”, “Luziânia”, “Muzambinho” e “Piracicaba”.

O estado fenológico da planta, ainda que não foi analisado neste experimento, pode ser um fato que interferiu nas diferentes concentrações de linalol obtidas. Para Verdian-Rizi *et al.* (2008), avaliaram os diferentes estados fenológicos de *Laurus nobilis* e concluíram que houve influencia na porcentagem dos compostos

majoritários presentes no óleo essencial proveniente das folhas, e recomendam que a melhor época de coleta do material seja na floração onde as porcentagens são maiores. Assim mesmo, Mishra *et al.* (2010) indica que existe diferenças nas concentrações de linalol no óleo essencial entre as inflorescências e as folhas da *L. alba*, variando entre 79,3% a 67,7% , respectivamente.

Santos e Inneco (2004), no experimento nas condições de Pentecoste - CE, observou que a maior produtividade do óleo essencial de *L. alba* foi 11,79 $L.ha^{-1}$ com uma porcentagem de carvona de 5,01 $L.ha^{-1}$. Comparando estes valores com os resultados encontrados neste trabalho, o maior valor de produtividade de óleo essencial foi 10,17 $L.ha^{-1}$ e o maior teor de linalol foi de 92% (Tabela 6). Estas diferenças de produtividade pode ser resultado de tratar-se de diferentes quimiotipos de *L. alba.*

3.3.4. Correlações entre massa seca de folhas, teores, produtividades de óleo essencial e linalol

Para quatro das variáveis analisadas realizou-se o coeficiente de correlação linear, houve três associações lineares positivas acima de 0,65 (Tabela 7).

TABELA 7 MATRIZ DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO SIMPLES ENTRE QUATRO PARAMETROS ANALISADOS DAS NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (MAIO-09).

	MS folhas ($Kg.ha^{-1}$)	**Teor de OE ($\mu l.g\ M.S.^{-1}$)**	**Produtividade de OE ($L.ha^{-1}$)**	**Produtividade Linalol ($L.ha^{-1}$)**
MS folhas ($Kg.ha^{-1}$)	1			
Teor de OE ($\mu l.g\ M.S.^{-1}$)	-0,29	1		
Produtividade de OE ($L.ha^{-1}$)	0,46	0,70	1	
Produtividade Linalol ($L.ha^{-1}$)	0,46	0,63	0,96	1

Observa-se que a massa seca de folhas em $Kg.ha^{-1}$ não apresentou correlação forte com nenhuma das outras três variáveis.

Já o teor correlacionou-se positivamente com a produtividade de óleo essencial (0,7 –Forte), e linalol (0,63- Moderada). A produtividade se correlacionou positivamente com os litros de linalol por hectare (0,96- Muito forte). A produtividade do óleo essencial por hectare apresentou uma correlação positiva moderada com a massa seca de folhas (0,46).

Entre os parâmetros menos correlacionados estiveram a massa seca de folhas em $Kg.ha^{-1}$ que se correlacionou negativamente com o teor (-0,29- Fraca), indicando que as procedências com maior massa seca foliar não corresponderam àquelas com altos teores de óleo essencial.

3.3.5. Composição do óleo essencial das folhas de *L. alba*

Além do linalol, foram identificados os constituintes 1-8 cineol, trans-cariofileno, oxido de cariofileno com porcentagens acima de 1% (Tabela 8).

TABELA 8 CONSTITUINTES DETERMINADOS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS FRESCAS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* IMPLANTADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR (MAIO-09).

	Procedência								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Constituiente %									
Linalol	72,16 b	83,70 ab	75,77 b	92,10 a	81,60 ab	77,70 ab	74,83 b	76,29 b	78,12 ab
1-8 Cineol	6,08 a	5,37 a	6,55 a	0,40 b	6,22 a	6,08 a	6,39 a	5,94 a	6,32 a
Trans-cariofileno	3,70 a	1,58 bc	2,24 abc	1,02 c	1,96 abc	2,16 abc	1,82 abc	3,25 ab	2,30 abc
Oxido de cariofileno	3,06 a	3,15 a	2,34 a	2,12 a	2,80 a	2,83 a	2,96 a	2,00 a	2,54 a
Identificados	84,99	93,80	86,90	95,64	92,58	88,77	86,00	87,48	89,28
Nao identificados	1,28	1,26	2,43	0,76	0,72	1,68	0,44	1,45	1,64
Outros abaixo do 1%	9,04	3,07	5,78	1,73	5,13	7,03	11,90	5,68	5,60
% Total	95,32	98,13	95,11	98,13	98,42	97,49	98,34	94,61	96,52

As procedências correspondem respectivamente a: 1. Brasília 1, 2. S. Gonçalo do R. Abaixo, 3. Cruzeiro/Grande, 4. Brasília 2, 5. Lavras, 6. Luminárias, 7. Luziânia, 8. Muzambinho, 9. Piracicaba. Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey (P<0,05%).

Observa-se que aquelas procedências com altos conteúdos de linalol, obtiveram uma menor porcentagem dos outros constituintes. Um claro exemplo é a procedência “Brasília 2” que obtendo 92% de linalol, obteve 0,40 de 1-8 cineol. E pelo contrario a procedência “Brasília 1” que obteve o menor conteúdo de linalol

72.16%, atingiu um dos maiores valores no 1-8 cineol (6,08%), trans-cariofileno (3,70%) e oxido de cariofileno (3,06%).

Esta característica de apresentar altos conteúdos num constituinte e menor porcentagem do outro, deve-se à forte ligação que existe na biosíntese dos constituintes (Figura 3). Observa-se que o precursor do linalol é o linalil pirofosfato, o qual também serve para biosintetizar 1-8 cineol (Hennebelle *et al*. 2006).

O segundo constituinte predominante no óleo essencial foi o 1-8 cineol. O fato de predominar o 1-8 cineol, além do linalol, já havia sido observado por Atti-Serafini *et al.* (2002), em experimento conduzido em Caixas do Sul – RS com *L. alba*.

No experimento realizado por Yamamoto *et al.* (2008), em três regiões do Estado de São Paulo (Campinas, Monte Alegre do Sul e Pindorama) com *L. alba*, os teores de linalol e 1-8 cineol foram os mais afetados pela irrigação e fertilização do solo em comparação com os constituintes mirceno, limoneno e citral.

O constituinte trans-cariofileno observado no óleo essencial das nove procedências, apresentou maior porcentagem na procedência “Brasília 1” (3,7%), diferindo estatisticamente unicamente de “São Gonçalo do R. Abaixo” e “Brasília 2”. Estudos comprovam a atividade antimicrobiana, principalmente em fungos patogênicos e bactérias gram (+/-)desse sesquiterpeno (Almeida *et al*. 2005). Outro constituinte presente no óleo essencial foi o óxido de cariofileno (2 a 3,15%), sem diferenças estatísticas entre as procedências (Tabela 8).

Segundo Hennebelle *et al.* (2006), os quimiotipos citral, geraniol e linalol de *L. alba* são classificados como quimiotipo I, devido à existência de uma estreita relação com a biosíntese destes compostos. Com relação à análise do óleo essencial, se observou que o geraniol também apareceu nas análises cromatográficas, mas não atingiu valores acima de 1% nas procedências.

3.3.6. Correlação simples entre constituintes no primeiro corte de *L. alba*

Foram analisadas as porcentagens dos constituintes determinados na analise química do óleo essencial das nove procedências através de correlações simples (Tabela 9)

TABELA 9. MATRIZ DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO SIMPLES ENTRE OS QUATRO CONSTITUINTES DETERMINADOS NA ANALISE CROMATOGRAFICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (MAIO-09).

	Linalol	1-8 Cineol	Transcariofileno
1-8 Cineol	-0,37		
Transcariofileno	-0,68	0,12	
Oxido de cariofileno	-0,39	-0,10	0,31

Para a correlação simples entre os constituintes observa-se que não houve uma relação forte ou muito forte, porém a relação do linalol com os outros três constituintes foi negativa. O fato que tenha sido negativa evidencia que quando aumentava o linalol, estes outros três diminuíam, atuando de forma antagônica. A relação negativa moderada foi estabelecida entre o transcariofileno e o linalol (-0,68). Já as outras relações estiveram entre fraca e bem fraca (Tabela 9).

É importante enfatizar que a síntese de linalol e dos demais constituintes voláteis obtidos no óleo essencial é regulada geneticamente. Conforme Dudareva *et al.* (2004), as mudanças temporais nas atividades das enzimas responsáveis pela formação de compostos voláteis, é regulada no nível de expressão genética, com alterações seqüenciais do nível de RNA mensageiro e atividades enzimáticas. E assim como, a *L. alba* quimiotipo linalol escolhe a via de síntese do linalol como produto final, diminui a inversão de carbono em outros constituintes tais como 1-8 cineol e transcariofileno.

3.4. CONCLUSÕES

As nove procedências selecionadas apresentam o mesmo crescimento nas condições de Pinhas, Região Metropolitana de Curitiba.

As nove procedências avaliadas em Pinhais apresentam diferenças significativas quando ao acúmulo na massa seca de folhas e ramos, teor, produtividade e teores de linalol. A procedência que se destaca nestas condições foi “Lavras” e “Brasília 1” por apresentar os maiores acúmulo de massa seca em folhas e ramos.

O teor e a produtividade de óleo essencial não apresentam correlação com a massa seca de folhas nas procedências, e sim a produtividade de linalol com a produtividade de óleo essencial. Portanto, não se pode estabelecer que a maior produção de massa seca se produz maior quantidade de óleo essencial.

Altos teores de linalol são identificados na procedência “Brasília 2” com 92,1%. Entre maiores porcentagens de linalol no óleo essencial de *L. alba*, diminui a porcentagem dos outros constituintes que compõem o óleo essencial e vice-versa.

L. alba deve ser cultiva em adensamentos cada vez menores para evitar a produção excessiva de ramos e impedir a perda das folhas pela caída dos ramos no solo.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadruple mass spectroscopy. **Carol Stream**: p.456, 2001.

ALMEIDA L.F.R.; DELACHIAVE M.E.A.; MARQUES M.O.M. Composição do óleo essencial de rubim (*Leonurus sibiricus* L. –Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, n.1, p.35-38, 2005.

ATTI-SERAFINI, L.; PANSERA, M.; ATTI-SANTOS, A.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G.; ROTA, L.; PARUOL, L.; MOYNA, P. Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill.)N.E. Br. Growth of southern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4, n.2, p.72-74, 2002.

CASTRO, D.; MING, L.; MARQUES, M. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas de *L. alba* (Mill.) N. E. Br. em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4, n.2, p.75-79, 2002.

COMISSAO DE QUIMICA E FERTILIDADE DO SOLO. **Manual de adubação e calagem para os Estados de Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** 1 ed. Porto Alegre, SBCS. Núcleo regional Sul, 394p. 2004.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology,** v.135, p.1893-1902, 2004.

DURÁN, D.; MONSALVE, L.; MARTÍNEZ, J.; STASHENKO, E. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia, y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. **Scientia et Technica**, n.33, p.435-438, 2007.

ERENO, D. **Perfume of basil**. First batch of linalol extracted from leaves of the plant, the cometed essential oil, is purchased by Canada. 2006. Disponível em: <http://www.revista.fapesp.br/index.php?art=1643&bd=1&pg=1&lg=en>. Acesso em: 29 de Julho de 2010.

HENNEBELLE, T.; SAHPAZ, S.; DERMONT, C.; JOSEPH, H.; BAILLEUL, F. The Essential Oil of *Lippia alba*: Analysis of Samples from French Overseas Departments and Review of Previous Works. **Chemistry & Biodiversity**, v.3, p.1116-1125, 2006.

JANUZZI, H. **Caracterização de dezesseis acessos de *L. alba* (Mill.)N.E.Br. no Distrito Federal**. Dissertação em Ciências Agrárias. Universidade de Brasília. 2006.

KLUEGER, P.A.; TEUBER, C.A.; DAROS, M.R.; FARIAS, M.R.; LIMA, T.C.M. Avaliação da atividade farmacológica central de diferentes preparações de *L. alba* Miller (Verbenaceae). In: XIV **Simpósio de plantas medicinais do Brasil**, Florianópolis- SC, 1996.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F.S.; PONS, T. Ecological Biochemistry: Allelopathy and defense against herbivores. In: **Plant physiological Ecology**, p.413-433,1998.

MAACK, R. **Geografia física do Estado do Paran**á. 3. ed. Imprensa Oficial, 440p., 2002.

MEJÍA, O.; JULIO, M.; SÁNCHEZ, M.; BONILLA, C.; VANEGAS, P. Efecto de la altura y frecuencia de corte y secado en el rendimiento y calidad del aceite esencial de pronto alivio. **Scientia et Technica**, v.13, n.33, p.253-255, 2007.

PALÁCIO-LOPÉZ, K.; RODRÍGUEZ-LOPÉZ, N. Plasticidad fenotípica en *Lippia alba* (Verbenaceae) en respuesta a la disponibilidad hídrica en dos ambientes lumínicos. **Acta Biológica Colombiana,** v.12, n.5, p.187-198, 2007.

PAVAN, M.A.; BLOCH, M.F.; ZEMPULSKI, H.C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D. C. **Manual de análise química de solo e controle de qualidade**. IAPAR. Circular 76, 1992.

PIMENTA, M.; FERNANDES, L.; PEREIRA, U.; GARCIA, L.; LEAL, S.; LEITAO, S.; SALIMENA, F.; VICCINI, L.; PEIXOTO, P. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.3, n.2, p.211-220, 2007.

RAGUSO, R.; PICHERSKY, E. New perspective in pollination biology: Floral fragrance. A day in the life of linalool molecule: Chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: Linalool biosynthesis in flowering plants. **Plant Species Biology**, n.14, p.95-120, 1999.

SANTOS, M.R.A.; INNECO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.182-185, 2004.

SANTOS, M.R.A.; INNECO, R.; SOARES, A. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, n.2, p.377-383, 2004.

SHIMAKURA, S.E.; RIBEIRO JUNIOR, P.J. Estatística. Disponível em: http://www.leg.ufpr.br/~paulojus/CE003/ce003/, Acesso em: 20 jan. 2010

SIANI, A.; TAPPIN, M.; RAMOS, M.; MAZZEI, J.; RAMOS, M.; AQUINO, F.; FRIGHETTO, N. Linalool from *Lippia alba*: Study of the Reproducibility of the Essential Oil Profile and the Enantiomeric Purity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3518-3521, 2002.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. A new version of the assistat statistical assistance software. In: World Congress on Computers in Agriculture, 4. Orlando-FL-USA: Anais: Orlando: **American Society of Agricultural Engineers**, p.393-396, 2006.

SWETMAN, T. Essential oils small-scale production. **Practical Action. The Schumacher Centre for Technology and Development.** UK. 2008. Disponível em: <http://practicalactionpublishing.org/print/docs/technical_information_service/essential_oils.pdf>. Acesso em: 9 de Dezembro 2009.

TAVARES, E.; JULIÃO, L.; LOPES, D.; BIZZO, H.R.; LAGE, C.L.S.; LEITÃO, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.

(Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.1, p.1-5, 2005.

UNCTAD, The United Nations Conference on Trade and Development. Market Brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native species: *Lippia alba*. 2005. Disponível em: http://www.unctad.org/biotrade/docs/biotradebrief-lippiaalba.pdf>. Acesso em: 7 de Julho de 2009.

VIT, P.; SILVA, B.; MELÉNDEZ, P. *Lippia alba* N.E.Br. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela. **Revista de la Facultad de Farmácia**, v.43, n.2, p.13-14, 2002.

YAMAMOTO, P.; COLOMBO, C.; AZEVEDO, J.; LOURENÇÃO, L.; ORTIZ, M.; DOMINGUES, G.; CHIORATO, A.; MELLO, M. A.; SIQUEIRA, W. Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Journal of Agricultural Science**, v.65, n.5, p.481-489, 2008.

4. CAPITULO II - ACÚMULO DE BIOMASSA DE *Lippia alba*, QUIMIOTIPO LINALOL, E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DA REBROTA

RESUMO

A *Lippia alba* pertencente à família Verbenaceae, é uma espécie usada comumente na medicina popular. Este trabalho teve como principal objetivo comparar a rebrota de nove procedências de *L. alba* quimiotipo linalol, em relação à massa seca de folhas e ramos, teor, produtividade de óleo essencial e linalol. O experimento foi conduzido na Estação Experimental do Canguiri, Pinhais - PR (Brasil). As plantas foram coletadas 150 dias após a primeira colheita. A extração do óleo essencial das folhas foi realizada por hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger durante duas horas. A procedência "Luziânia" apresentou a maior massa seca (MS) de folhas (41,81 $g.planta^{-1}$). "Piracicaba" apresentou a maior relação MS de folhas·MS $Total^{-1}$ (0,50). O maior teor e a maior produtividade foi obtida pela "Brasília 2" 8,85 $\mu L.g.MS^{-1}$ e 3,24 $L.ha^{-1}$, respectivamente. As correlações entre massa seca, teor e produtividade foram de forte a bem fracas. O maior teor de linalol foi obtido pela procedência "Brasília 2", 76,56%. A procedência "Piracicaba" teve a menor massa seca de folhas e o maior valor na relação de MS de folhas sobre a MS total. Se identificou 1-8 cineol (9,98-0,07%), alfa-terpineol (0,92-1,49%), neral (0,39-5,12%), geranial (0,61-7,08%), acetato de geranila (0,15-1,45%), beta-cariofileno (0,91-1,33%), oxido de cariofileno (2,14-3,04%). À medida que aumentou o linalol, os outros constituintes diminuíram suas porcentagens entre as procedências.

Palavras chaves: planta medicinal, aroma, substancia volátil, terpeno, biomassa, rebrota.

ABSTRACT

Lippia alba is a species used in folk medicine, belonging to the Verbenaceae family. The essential oils in *L. alba* have been proven to be influenced by different harvest times. This experiment has the principal aim of comparing the regrowth of nine materials of *L. alba* chemotype linalool, evaluating the dry leaf and stem matter, yield, productivity and linalol contents. An experiment was conducted at the Experimental Station of Canguiri Centre, Pinhais – PR, Brazil in which plants were collected 150 days after the first harvest date; the essential oil extraction was obtained from the leaves through hydrodistillation in a Clevenger apparatus during two hours. The results concluded that Luziânia" had the highest dry leaf mass (DM) (41,81 g.plant $^{-1}$). "Piracicaba" had the highest ratio of DM leaf/ DM Total (0.50). The highest yield and the highest productivity were obtained by "Brasilia 2" 8.85 µL.g MS^{-1} and 3.24 L.ha^{-1}. The highest content of linalool was obtained by "Brasilia 2" 76.56% and it maintained the trend of having the highest content of linalool at two different harvest times. "Piracicaba" maintained the same provision to provide the lowest leaf dry mass and the highest value in leaf DM over the total DM. Among the other essential oil constituents were identified 1-8 cineol (9,98-0,07%), alfa-terpineol (0,92-1,49%), neral (0,39-5,12%), geranial (0,61-7,08%), geranila acetate (0,15-1,45%), beta-cariofilene (0,91-1,33%), cariofileno oxide (2,14-3,04%). While linalool contents increased, others percentage compounds decreased between the materials.

Key words: Medicinal plant, aroma, volatile substance, terpene, biomass, regrowth

4.1. INTRODUÇÃO

Lippia alba é uma espécie aromática distribuída na América do Sul e Central. É usada na medicina tradicional como sedativa, digestiva e relaxante muscular (Aguiar e Costa 2005). Testes farmacológicos têm demonstrado que o óleo essencial apresenta efeitos sedativos em ratos (Vale *et al.,* 1999; Gazola *et al.,* 2004). Estas propriedades podem ser atribuídas ao óleo essencial presente nas folhas.

Existem vários fatores que afetam o teor do óleo essencial e a concentração dos constituintes majoritários, entre eles estão as condições de localização geográfica, características físico-químicas do solo, forma de cultivo, época de colheita, adubação, idade da planta, estado fenológico, armazenamento do material e o método de extração do óleo essencial, entre outros (Mejía *et al.,* 2007; Hernandéz *et al.,* 2004).

A *L. alba* é uma espécie que têm a capacidade de rebrotar (Atti-Serafini *et al.,* 2002). Santos e Inneco (2004) avaliaram os níveis de adubação orgânica e altura do corte na produção de matéria seca foliar de *L. alba*, no nordeste brasileiro (Pentecoste - CE) aos 60 e 120 dias após o transplante das mudas. Os autores observaram que a produção de matéria seca foliar na segunda colheita foi superior à obtida na primeira colheita. No estudo realizado por Mejía *et al.* (2007), em Palmira (Colômbia), foram analisadas três épocas de colheita (2, 3 e 4 meses) e três alturas de corte da planta (0, 15 e 25 cm). Maior teor do óleo essencial de *L. alba* quimiotipo carvona foi obtido na colheita realizada a cada três meses na altura de corte de 15 cm.

Com relação à época de colheita Hernandéz *et al.* (2004) avaliaram o efeito na produção de massa seca total e foliar de *L. alba* em Palmira (Colômbia). Os autores observaram que coletando a cada dois meses as plantas apresentaram maior proporção de folhas em relação a ramos, em comparação aos quatro meses. Sugerindo que para obter maiores teores de óleo essencial não é somente importante a adubação, como também fatores como a frequência do corte das plantas.

O objetivo deste trabalho foi comparar a rebrota de nove procedências de *L. alba*, quimiotipo linalol, em relação à massa seca de folhas e ramos, teor, produtividade do óleo essencial e linalol.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Área de estudo

O experimento foi realizado entre maio e outubro de 2009 na Estação Experimental do Canguiri (EEC), da Universidade Federal do Paraná– UFPR, Pinhais - PR, Região Metropolitana de Curitiba. A área localiza-se à 25º23'13˝ Sul e no meridiano 49º07'43" Oeste de Greenwich, a 900 m de altitude, inserida dentro da APA do Iraí.

O clima regional é classificado como Cfb, segundo a classificação de Köeppen, com temperatura média anual de 18ºC, sendo que a temperatura média do mês mais quente é superior a 24ºC e a do mês mais frio é de 13ºC, com verãos frescos, geadas freqüentes, sem estação seca definida e com precipitação média anual de 1.451 mm (Maack, 2002).

As condições climáticas (temperatura, umidade relativa e precipitação) durante o período de condução do experimento foram fornecidas pela estação meteorológica de Pinhais do SIMEPAR (Figura 11 e Figura 12).

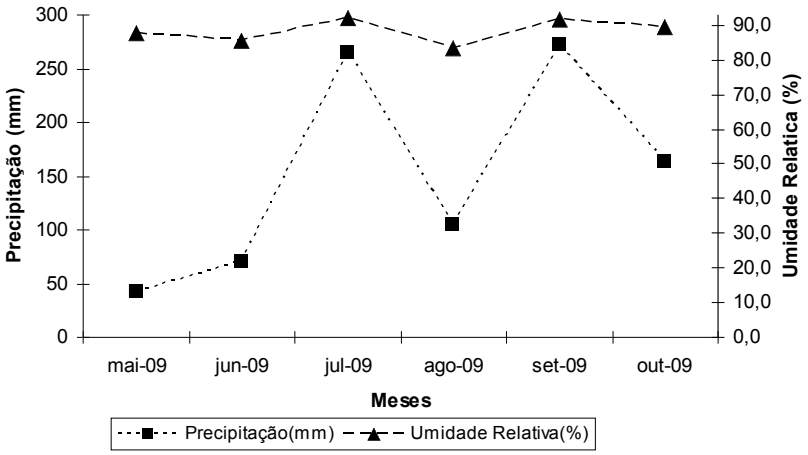

FIGURA 11. PRECIPITAÇÃO E UMIDADE RELATIVA REGISTRADAS DURANTE O EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUMIOTIPO LINALOL, PINHAIS- PR, 2009.

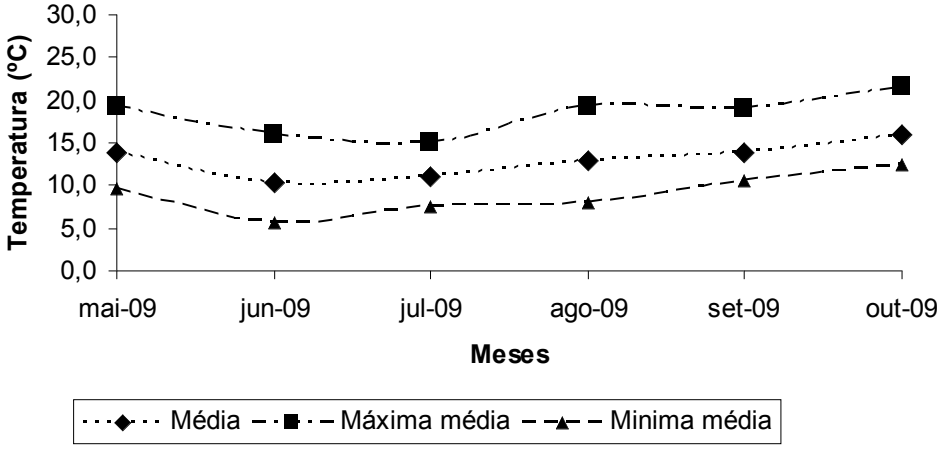

FIGURA 12. MÉDIAS DE TEMPERATURA MÉDIA, MÁXIMA E MINIMA MESAL DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO COM NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, PINHAIS – PR, 2009.

4.2.2. Adubação

Após o primeiro corte das plantas foram aplicados 136 $Kg.ha^{-1}$ de nitrogênio na forma da uréia, segundo a recomendação da Comissão de Química e Fertilidade do Solo de RS e SC (2004) para a cultura do capim-limão.

4.2.3. Colheita

A colheita das brotações foi realizada após 150 dias da primeira colheita (Outubro -2009). O corte da parte aérea das plantas foi realizado a 15 cm de altura, segundo recomendação para *L. alba* (Mejía *et al.,* 2007), e posteriormente foi quantificada a massa fresca de folhas e ramos.

Para a determinação dos teores de óleo essencial, e a massa de ramos e folhas em base seca, as amostras foram mantidas em estufa (marca Nova Ética Serie 400ND) a 45°C com ventilação forçada até atingir massa seca constante.

Para a extração do óleo essencial foram usadas amostras de 100 g de folhas frescas das seis plantas por repetição, submetidas a hidrodestilação em aparelho graduado tipo Clevenger durante duas horas. A quantificação do óleo essencial foi realizada com a utilização de micropipetas de precisão (100-1000 µL). O óleo essencial obtido foi armazenado em tubos eppendorf a -20ºC onde permaneceram até o momento da analise cromatográfica.

4.2.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com nove tratamentos (procedências) em quatro repetições com seis plantas por parcela, com espaçamento de 1 m x 1 m.

A distribuição em campo das procedências foi realizada com o uso da tabela de números aleatórios (Amostragem Aleatória Simples AAS).

4.2.5. Análise química do óleo essencial

A caracterização química do óleo essencial das folhas de *L. alba* foi realizada pela EMBRAPA, Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro. A quantificação dos constituintes foi feita por meio de cromatografia em fase gasosa, utilizando-se equipamento Agilent 6890N, com detector de ionização por chama (FID), operando a 250ºC e uma coluna HP5 (30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de filme líquido), com hidrogênio como gás de arraste (1,0 mL min. $^{-1}$). Foi injetado 1,0 µL de amostra em injetor aquecido a 250ºC operando no modo com divisão de fluxo (1:20). A programação de temperatura do forno foi de 60ºC a 240ºC, a uma taxa de aquecimento de 3ºC min.$^{-1}$ por 50 min de tempo total da corrida. Para a quantificação foram utilizados os valores de área normalizada, expressos em porcentagens.

Os espectros de massas foram obtidos em cromatógrafo Agilent 6890N acoplado ao detector seletivo de massas Agilent 5973N, equipado com uma coluna capilar HP5MS (30 m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25 µm de filme liquido) utilizando hélio como gás carregador (1,0 ml.min^{-1}), nas mesmas condições utilizadas acima. O detector foi operado no modo impacto de elétrons, com energia de ionização de 70eV. Os índices de retenção para o óleo essencial das folhas foram calculados após a injeção de uma série homóloga de *n*-alcanos, nas mesmas condições utilizadas para as amostras. A identificação dos constituintes do óleo foi realizada por comparação dos índices de retenção calculados com os valores da literatura (Adams, 2001) e pela comparação dos espectros de massas obtidos com o uso da biblioteca Wiley 6th edition.

4.2.6. Análises estatísticas

As análises dos dados foram feitas pela análise de variância (ANOVA), utilizando o programa ASSISTAT versão 7.4 beta (Silva e Azevedo, 2006). As variâncias foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e as médias dos tratamentos (Procedências) comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Realizou-se uma analise de correlação linear simples entre os parâmetros analisados. Os critérios estabelecidos por Shimakura e Ribeiro Junior (2006), foram os usados para a interpretação dos resultados obtidos (Tabela 10).

TABELA 10. ÍNDICE DE CORRELAÇÃO UTILIZADO NO EXPERIMENTO DE ACORDO COM INTERPRETAÇÃO DE SHIMAKURA E RIBEIRO JUNIOR (2006).

Valor de correlação (+ ou -)	Interpretação de correlação
0,00 a 0,19	Bem Fraca
0,20 a 0,39	Fraca
0,40 a 0,69	Moderada
0,70 a 0,89	Forte
0,90 a 1,00	Muito Forte

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Massa seca de folhas e ramos

Houve diferença estatística entre as procedências para o acúmulo de massa seca de folhas e ramos (Tabela 11). A massa seca de folhas em g.planta^{-1} variou de 41,81 a 27,36. Para a massa seca de ramos em g.planta^{-1} variou de 37,64 a 70,41.

TABELA 11 MÉDIA DA MASSA SECA (MS) DE FOLHAS E RAMOS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, (OUT/09)

Procedência Cidade	Estado	MS folhas (g.planta $^{-1}$)	MS Ramos (g.planta $^{-1}$)	MS folhas (Kg.ha $^{-1}$)	Relação MS Folhas / MS Total
Brasília 1	DF	35,51 b	70,41 a	355,14 b	0,34 e
S. Gonçalo do R. Abaixo	MG	32,36 bc	47,96 cde	323,58 bc	0,40 cd
Cruzeiro / Grande	DF	33,33 b	52,24 bcd	333,26 b	0,39 cde
Brasilia 2	DF	36,67 ab	47,64 de	366,71 ab	0,44 bc
Lavras	MG	34,84 b	59,78 b	348,45 b	0,37 de
Luminárias	MG	35,60 b	57,73 bc	356,00 b	0,38 cde
Luziânia	GO	41,81 a	45,35 def	418,08 a	0,48 ab
Muzambinho	MG	27,36 c	40,78 ef	273,56 c	0,40 cd
Piracicaba	SP	36,96 ab	37,64 f	369,65 ab	0,50 a
	CV %	6,31	8,10	6,31	5,85

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05%).

Com relação à produção de massa seca de folhas, a média superior foi obtida pela procedência “Luziânia”, sem diferença significativa entre “Brasília 2” e “Piracicaba”. A maior produção de massa seca de ramos foi observada na procedência de “Brasília 1” diferindo estatisticamente das outras procedências.

Na conversão de massa seca de folhas em Kg.ha^{-1}, a procedência “Luziânia” obteve o maior valor, não diferindo estatisticamente de “Brasília 2” e “Piracicaba”.

Na relação massa seca folha/massa seca total esta variou de 0,34 a 0,50. A procedência que obteve o valor absoluto maior na variável de relação MS Folha/MS total foi “Piracicaba”, não diferindo estatisticamente de “Luziânia”.

As diferenças encontradas na produção de massa seca em folhas e ramos, em relação à primeira colheita, podem ser possivelmente explicadas pelas condições

ambientais na qual se desenvolveu *L. alba*. Para a primeira colheita (Capítulo 1) a temperatura média do período de crescimento (dezembro a maio 2009) foi entre 13 a 19ºC, já para os meses entre (maio a outubro de 2009) a temperatura média foi entre 10 a 15,9 ºC. Estas diferenças climáticas afetaram o acúmulo de biomassa das plantas, assim como mencionam Rajeswara *et al.* (1996) que as condições climáticas promovem ou inibem o crescimento das plantas pelo aumento ou diminuição na produção de folhas e ramos.

4.3.2. Teor, produtividade e teor de linalol do óleo essencial

Houve diferenças significativas com relação aos valores de teor e produtividade do óleo essencial obtidos nas nove procedências avaliadas, (Tabela 12). O teor variou de 6,54 a 8,85 µL M.S.$^{-1}$ e a produtividade de 2,39 a 3,24 L.ha^{-1}.

TABELA 12 MÉDIAS DO TEOR, PRODUTIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL (OE) E LINALOL DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba*, AVALIADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS - PR, COLHIDAS APÓS 150 DIAS DO PRIMEIRO CORTE (OUT/09).

Procedência		**Teor do OE**	**Produtividade do OE**	**Teor de linalol**	**Produtividade linalol**
Cidade	**Estado**	**µl.g M.S.$^{-1}$**	**L . ha^{-1}**	**%**	**L . ha^{-1}**
Brasília 1	DF	7,49 ab	2,67 ab	59,30 b	1,59 b
S. Gonçalo do R. Abaixo	MG	7,81 ab	2,52 ab	62,82 b	1,58 b
Cruzeiro / Grande	DF	7,50 ab	2,50 ab	60,88 b	1,52 b
Brasilia 2	DF	8,85 a	3,24 a	76,56 a	2,48 a
Lavras	MG	7,53 ab	2,61 ab	58,91 b	1,55 b
Luminárias	MG	7,22 ab	2,58 ab	58,25 b	1,51 b
Luziânia	GO	6,54 b	2,72 ab	46,38 c	1,26 b
Muzambinho	MG	8,73 a	2,39 b	60,34 b	1,44 b
Piracicaba	SP	8,15 b	3,01 ab	58,36 b	1,76 b
	CV %	11,13	12,74	4,58	14,08

Médias das colunas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05%).

Os maiores teores de óleos essenciais ocorreram nas procedências “Brasília 2” e “Muzambinho”, diferindo estatisticamente de “Luziânia” e “Piracicaba”. A produtividade do óleo essencial da procedência “Brasília 2” foi superior estatisticamente em relação à procedência “Muzambinho” devido a sua menor produção de massa seca de folhas (Tabela 12).

O teor de linalol variou entre 46,38 a 76,56%. Destacando-se a procedência “Brasília 2” com o maior teor de linalol (76,56%) e inferior na procedência “Luziânia” 46,38%. As demais procedências apresentaram teores intermediários.

A procedência “Brasília 2” apresenta produtividade de óleo essencial superior (3,24 $L.ha^{-1}$), quando comparada com todas as demais procedências (Tabela 12).

Santos e Inneco (2004) trabalhando com *L. alba* quimiotipo limoneno-carvona, obtiveram produtividades entre 3,47 a 11,79 $L.ha^{-1}$ após 120 dias do cultivo, valores superiores comparados ao quimiotipo linalol avaliado neste experimento cuja produtividade variou de 2,39 a 3,24 $L.ha^{-1}$ (Tabela 12). Ainda existindo a limitação no acúmulo de massa seca em folhas, deve-se ressaltar o potencial que teve o quimiotipo pelos elevados teores de linalol nas folhas.

Resultados apresentados por Hernandéz *et al.* (2004) no experimento realizado com *L. alba* em Palmira, Valle del Cauca- COL, determinou que quanto mais jovens as plantas, elas apresentam maior proporção de folhas em comparação com os ramos, concluindo que colher plantas jovens com folhas novas é uma característica desejável, quando se têm como objetivo obter maiores produtividades de óleo essencial.

4.3.3. Correlações entre parâmetros

Para as quatro variáveis analisadas determinou-se o coeficiente de correlação linear simples (Tabela 13). Foram estabelecidas dois correlações positivas superiores a 0,7.

TABELA 13 MATRIZ DE COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE QUATRO VARIÁVEIS ANALISADAS DAS NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (OUT-09).

	MS folhas ($Kg.ha^{-1}$)	**Teor de OE ($\mu l.g\ M.S.^{-1}$)**	**Produtividade de OE ($L.ha^{-1}$)**	**Produtividade Linalol ($L.ha^{-1}$)**
MS folhas ($Kg.ha^{-1}$)	1			
Teor de OE ($\mu l.g\ M.S.^{-1}$)	-0,46	1		
Produtividade de OE ($L.ha^{-1}$)	0,34	0,67	1	
Produtividade Linalol ($L.ha^{-1}$)	0,08	0,74	0,89	1

A produtividade de linalol ($L.ha^{-1}$) correlacionou-se positivamente com o teor (forte 0,74) e com a produtividade de óleo essencial ($L.ha^{-1}$) (0,89 forte). As correlações mais fracas ocorreram entre a massa seca de folhas e produtividade de óleo essencial e de linalol. Observa-se a correlação negativa moderada entre acúmulo de massa seca de folhas e teor de óleo essencial, situação similar determinada nas correlações simples do capitulo anterior.

Não se observou correlação forte entre o acumulo de massa seca e os teores das procedências avaliadas. Portanto, entre mais massa seca, os teores diminuem. Com isto deve ser apontado o equilíbrio aonde se obtenham moderadas produções de massa seca de folhas e que a sua vez teores e produtividades altas. Esta característica de escolher materiais vegetativos com produção de massa seca de folhas moderadas e altos teores pode ser uma característica desejada a nível industrial. Já que, ter materiais que ocupem espaços menores na retorta usada para

extração com vapor de água, mas que sejam produtivos em litros por hectare pode ser uma propriedade muito importante, a qual pode não estar sendo analisada na avaliação dos diversos materiais vegetativos.

4.3.4. Composição do óleo essencial da rebrota das folhas de *L. alba*

Os constituintes identificados no óleo essencial de *L. alba* com porcentagens acima de 1% encontram-se na Tabela 14.

TABELA 14. CONSTITUINTES IDENTIFICADOS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS FRESCAS DE NOVE PROCEDÊNCIAS DE *L. alba* CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS – PR, (OUT-2009).

	Procedência								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Constituiente (%)									
Linalol	59,30 b	62,82 b	60,88 b	76,56 a	58,91 b	58,25 b	46,38 c	60,34 b	58,36 b
1-8 Cineol	9,47 a	8,94 a	9,98 a	0,07 b	9,49 a	8,65 a	7,72 a	9,57 a	8,67 a
Alfa-terpineol	1,20 a	1,12 a	1,40 a	0,93 a	1,03 a	1,15 a	0,92 a	1,49 a	1,21 a
Neral	1,63 bc	1,11 cd	1,29 bcd	0,39 d	1,48 bc	2,18 b	5,12 a	1,46 bc	1,84 bc
Geranial	2,38 bc	1,56 cd	1,70 cd	0,61 d	2,49 bc	2,94 b	7,08 a	1,88 bc	2,72 bc
Acetato de geranila	1,04 ab	0,85 ab	1,21 ab	0,15 b	0,80 ab	1,14 ab	1,45 a	0,68 ab	1,28 a
Beta- cariofileno	0,99 a	1,06 a	0,93 a	1,00 a	1,07 a	1,28 a	1,33 a	0,91 a	1,09 a
Oxido de cariofileno	2,14 a	2,52 a	2,43 a	2,96 a	3,04 a	2,60 a	2,53 a	2,62 a	2,45 a
Identificados	78,15	79,97	79,83	82,66	78,32	78,19	72,53	78,96	77,62
Nao identificados	7,45	7,32	7,11	6,72	6,83	7,28	8,72	7,59	7,80
Outros abaixo do 1%	5,29	4,01	4,01	1,73	5,82	4,61	6,64	4,94	5,52
Total	90,89	91,31	90,94	91,11	90,97	90,08	87,90	91,49	90,94

As procedências correspondem respectivamente a: [1.] Brasília 1, [2.] S. Gonçalo do R. Abaixo, [3.] Cruzeiro/Grande, [4.] Brasília 2, [5.] Lavras, [6.] Luminárias, [7.] Luziânia, [8.] Muzambinho, [9.] Piracicaba. Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,05%).

Além do linalol como constituinte majoritário do óleo essencial de *L. alba*, foram identificados 1-8 Cineol (0,07 até 9,98%); alfa-terpineol (0,92 a 1,49%); oxido cariofileno (2,14 a 3,04%); geranial (0,61 a 7,08%); neral (0,39 a 5,12%); acetato de geranila (0,15 e 1,45%) e beta- cariofileno (0,91 e 1,33%).

Nos constituintes do óleo essencial nas procedências observa-se que quando se reduz o linalol, aumentam geranial e neral. Na procedência “Luziânia” obteve os menores conteúdos de linalol (46,38%), e a sua vez as maiores porcentagens em neral (5,12%) e geranial (7,08%). Esta característica foi observada também no primeiro corte. Para Barros *et al.* (2009) estas diferenças nas porcentagens dos

diversos constituintes pode ser atribuído à versatilidade catalítica das enzimas terpeno-sintetases, que freqüentemente produzem múltiplos produtos a partir de um único substrato.

Tavares *et al.* (2005) comparou três quimiotipos (citral, carvona e linalol) nas condições do município do Rio de Janeiro. O quimiotipo linalol apresentou como constituintes majoritários o linalol 60,05%, além de sabineno (1,23%); 6- metil – 5-hepten – 2- ona (1,18%); 1-8 cineol (5,96%); *trans*-diidro carvona (1,94%); *trans*-carveol (3,10%); B- elemeno (1,33%); E-cariofileno (3,15%); Germacreno D e B (5,20 e 2,61% respectivamente). Por tanto, neste experimento foram observado apenas o 1-8 cineol e linalol.

Siani *et al.* (2002) identificaram no óleo essencial de *L. alba* além do linalol como constituinte majoritário (46,5 a 90,7%), o β - elemeno (1,6 a 3,3%), β-cariofileno (1,9 a 6,0%), Germacreno D e B com (2,0 a 3,2% e 2,4 a 3,2%, respectivamente). Já o composto Beta-cariofileno e o linalol foram observados nas procedências, sendo que o beta-cariofileno esteve presente apenas na segunda colheita sem diferença significativa entre as procedências e numa porcentagem de 0,91 a 1,33%.

A porcentagem de 1-8 cineol variou entre 0,07 a 9,98 %, sendo a procedência “Brasília 2” que apresentou menor porcentagem deste constituinte na colheita.

Yamamoto *et al.* (2008) avaliaram a estabilidade e adaptabilidade fenotípica de vários quimiotipos de *L. alba*, um entre eles foi o quimiotipo linalol. Observou-se que entre os compostos majoritários estavam o linalol e o 1-8 cineol, variando entre 75,7 a 76,0% de linalol e 10,6 a 11,2% de 1-8 cineol. Porcentagens as quais se encontram acima da faixa dos conteúdos identificados das nove procedências cultivadas em Pinhais - PR.

4.3.5. Correlação simples entre constituintes na rebrota de *L. alba*

TABELA 15. MATRIZ DOS COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO SIMPLES ENTRE OS SETE CONSTITUINTES DETERMINADOS DA ANALISE QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *L. alba* QUIMIOTIPO LINALOL, CULTIVADAS NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DO CANGUIRI, PINHAIS-PR (OUT-09).

	linalol	1-8 cineol	alfa-terpineol	neral	geranial	acetato de geranila	beta-cariofileno
1-8 cineol	-0,57						
alfa-terpineol	0,14	0,37					
neral	-0,85	0,16	-0,27				
geranial	-0,85	0,17	-0,23	0,98			
acetato de geranila	-0,61	0,47	0,06	0,47	0,50		
beta-cariofileno	-0,34	-0,14	-0,50	0,38	0,36	0,04	
oxido de cariofileno	0,05	-0,37	-0,13	-0,09	-0,03	-0,24	0,18

Para as correlações simples entre os 8 constituintes determinados do óleo essencial de *L. alba* acimo do 1%, observa-se que entre o linalol e alguns constituintes as correlações foram negativas, exceto com o alfa-terpineol e o oxido de cariofileno. Uma correlação negativa forte se estabeleceu entre o linalol e o neral e geranial (-0.85 muito forte), deduzindo com isto que quando algum destes constituintes aumenta, os outros diminuem. Uma correlação positiva muito forte foi estabelecida entre o neral e o geranial, predizendo que se aumenta neral, o geranial também.

Entre as correlações moderadas positivas estão às estabelecidas entre o alfa-terpineol e beta-cariofileno (0,5); geranial e acetato de geranila (0,5); 1-8 cineol e acetato de geranila (0,47), neral e acetato de geranila (0,47).

Observou-se que as procedências com altos teores de linalol apresentaram baixos conteúdos dos demais constituintes do óleo essencial. Fato que pode estar ligado ao nível da transcrição ou síntese de RNA de determinados genes na síntese deste constituinte. Iijima *et al.* (2004) ressalta que para *Ocimum basilicum*, os fatores que determinam a produção do constituinte majoritário esta fortemente ligada à transcrição dos genes que codificam para a linalol sintetase ou para geraniol sintetase.

Para Sangwan *et al.* (2001) um fator determinante é a presença do composto majoritário do óleo essencial, o qual estabelece características únicas ao óleo e é quem contribui significativamente para o volume total do óleo a ser comercializado.

No entanto, enfatiza-se que a presença dos constituintes em baixas porcentagens presentes no óleo essencial, são os que desempenham papéis organolépticos importantes. Sendo assim, os constituintes que estiveram abaixo do 1% podem ter funções importantes nas características sensoriais do óleo essencial de *L. alba*.

Por outro lado, as espécies do gênero *Lippia* caracterizam-se pela adaptação às condições ambientais xerofíticas (Arambarri *et al.,* 2006) e a presença de tricomas tanto na parte abaxial e adaxial das folhas (Santos *et al.,* 2004) variam dependendo das condições ambientais (Arambarri *et al.,* 2006; Combrinck *et al.,* 2007).

As diferenças nos resultados das procedências avaliadas em Pinhais - PR, como em outros trabalhos, podem ser o resultado das modificações na densidade de tricomas devido às condições que foram submetidas as plantas. Santos *et al*.(2004) no município de Pentecoste (CE), determinaram que na época seca (aumento de temperatura e maior intensidade luminosa) a obtenção de óleo essencial aumentou em comparação com a época chuvosa.

Siani *et al.* (2002) observou a variação (46,5 a 90,7%) dos teores de linalol em seis regiões diferentes no Brasil. Esta faixa de variação pode ser comparada com a obtida em Pinhais – PR, onde na primeira colheita (maio-09) foi entre 72,16 a 92,10% (Tabela 8) e na segunda colheita (outubro- 09) de 46,38 a 76,56% (Tabela 14). Apontando a pensar que mesmo estando em lugares diferentes ou em lugares similares a variação do óleo essencial envolve muitos fatores específicos, interferindo no acúmulo de biomassa da planta como a idade do tecido foliar, partes da planta usada, características físico-químicas do solo, clima, fotoperíodo e a competição intra e inter especifica (Aguiar e Costa, 2004; Castro *et al.,* 2002; Oliveiro - Verdel, 2009).

4.4. CONCLUSÕES

A procedência “Brasília 2” apresenta produtividade e teor na rebrota satisfatórios para as condições de Pinhais.

A produtividade de óleo essencial apresenta correlação maior com o teor de óleo essencial do que com massa seca de folhas. O teor e produtividade não têm correlação com a produção de massa seca de folhas, sendo assim, variáveis que vão a sentidos contrários.

A procedência “Muzambinho” embora se destaque no teor de óleo essencial, apresenta baixa produtividade devido à produção de massa seca foliar inferior.

Entre maior o teor de linalol do óleo essencial das folhas de *L. alba* quimiotipo linalol, observa-se menor porcentagem dos outros constituintes.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadruple mass spectroscopy. **Carol Stream**: Allured, p.452, 2001.

AGUIAR, J.S.; COSTA, M.C.C.. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae): Levantamento nas publicações nas áreas químicas, agronômica e farmacológica no período de 1979 a 2004. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, n.1, p.79-84, 2005.

ARAMBARRI, A.; FREIRE, S.; COLARES, M. N.; BAYÓN, N. D.; NOVOA, M. C.; MONTI, C.; STENGLEIN, S.A. Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from gallery forests of the paranaense province (Argentina). Part 1. Bol**. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica.** v.41, n.3-4, p.233-268, 2006.

ATTI-SERAFINI, L.; PANSERA, M.; ATTI-SANTOS, A.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G.; ROTA, L.; PARUOL, L.; MOYNA, P. Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill.)N.E. Br. Growth of southern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4,n.2, p.72-74, 2002.

BARROS C.M.F.; ZAMBARDA O.E.; HEINZMANN B.M.; MALLMANN C.A. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) Nn. Ee. Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v.32, n.4, p.861-867, 2009.

CASTRO, D.; MING, L.; MARQUES, M. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas de *L. alba* (Mill.) N. E. Br. em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4, n.2, p.75-79, 2002.

COMBRINCK, S.; DU PLOOY, G.; McCRINDLE, R.; BOTHA, M. Morphology and histochemistry of the glandular tricomes of *Lippia escaberrima* (Verbenaceae). **Annals of Botany,** v.99, p.1111-1119, 2007.

COMISSAO DE QUIMICA E FERTILIDADE DO SOLO. **Manual de adubação e calagem para os Estados de Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** 1 ed. Porto Alegre, SBCS. Núcleo regional Sul, 400 p., 2004.

GAZOLA, R.; MACHADO, D.; RUGGIERO, C.; SINGI, G.; MACEDO, M. *Lippia alba*, *Melissa officinalis* and *Cymbopogon citratus*: Effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats. **Pharmacological Research,** v.50, p.477–480, 2004.

HERNANDÉZ, H.; BONILLA, C.; SÁNCHEZ, M. Efecto de la fertilización nitrogenada en la producción de biomasa y calidad de aceite esencial en *Lippia alba* (Mill.), Pronto alivio. **Acta Agronómica**, v.53, n.1, p.10-15, 2004.

IIJIMA, Y.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; FRIDMAN, E.; GANG, D. R.; BAR, E.; LEWINSOHN, E.; PICHERSKY, E. The Biochemical and molecular basis for the divergent patterns in the biosynthesis of terpenes and phenylpropenes in the peltate Glands of three Cultivars of Basil. **Plant Physiology**, v.136, p.3724–3736, 2004.

MAACK, R. **Geografia física do Estado do Paraná,** Imprensa Oficial, 2002.

MEJÍA, O.; JULIO, M.; SÁNCHEZ, M.; BONILLA, C.; VANEGAS, P. Efecto de la altura y frecuencia de corte y secado en el rendimiento y calidad del aceite esencial de pronto alivio. **Scientia et Technica**, v.13, n.33, p.253-255, 2007.

OLIVEIRO-VERDEL, J.; GÜETTE-FERNANDEZ, J.; STASHENKO, E. Acute toxicity against *Artemia franciscana* of essential oils isolated from plants of the genus *Lippia* and *Piper* collected in Colombia. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**. Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica. Chile. v.8, n.5, p.419-427, 2009.

RAJESWARA, B.R.; KAUL, P.N.; MALLAVARAPU, G.R.; RAMESH, S. Effects of seasonal climatic changes on biomass yield and terpenoid composition of Rose-scented geranium (*Pelargonium* species). **Biochemical Systematic and Ecology**, v.24, n.7-8, p.627-635, 1996.

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

SANTOS, M.R.A.; INNECO, R. Adubação orgânica e corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.2 p.182-185, 2004.

SANTOS, M.R.A.; INNECO, R.; SOARES, A. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, n.2, p.377-383, 2004.

SHIMAKURA, S.E.; RIBEIRO, JUNIOR P. J. Estatística. Disponível em: http://www.leg.ufpr.br/~paulojus/CE003/ce003/, Acesso em: 20 jan. 2010.

SIANI, A.; TAPPIN, M.; RAMOS, M.; MAZZEI, J.; RAMOS, M.; AQUINO, F.; FRIGHETTO, N. Linalool from *Lippia alba*: Study of the Reproducibility of the Essential Oil Profile and the Enantiomeric Purity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3518-3521, 2002.

SILVA, F. de A.S.; AZEVEDO, C.A.V. de. A new version of the assistat statistical assistance software. In: World Congress on Computers in Agriculture, 4. : Anais: **American Society of Agricultural Engineers**, p.393-396, 2006.

TAVARES, E.; JULIÃO, L.; LOPES, D.; BIZZO, H.R.; LAGE, C.L.S.; LEITÃO, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.1, p.1-5, 2005.

VALE, T.G; MATOS, F.J.A.; LIMA, T.C.M.; VIANA, G.S.B. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. **Journal of Ethnopharmacology**, v.167, p.127-133, 1999.

YAMAMOTO, P.; COLOMBO, C.; AZEVEDO, J., LOURENÇÃO, L.; ORTIZ, M.; DOMINGUES, G.; CHIORATO, A.; MELLO, M. A.; SIQUEIRA, W. Performance of

ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Journal of Agricultural Science**, v.65, n.5, p.481-489, 2008.

5. CONCLUSÕES GERAIS

A procedência “Brasília 2” apresentou teores de linalol destacados nas duas colheitas realizadas.

Nas duas colheitas realizadas os resultados entre as procedências variam. As condições de temperatura e condições edafoclimáticas locais influenciam no acúmulo de biomassa, produção de óleo e conteúdos do constituinte majoritário da *L. alba*.

Nas correlações simples destaca-se que não se estabelece uma correlação forte ou muito forte entre a massa seca de folhas e teores e produtividades do óleo essencial nas duas colheitas.

As procedências selecionadas de *L. alba* continuam sendo quimiotipo linalol, mas os teores de linalol no óleo essencial variam conforme as condições ambientais do local onde se desenvolve a planta.

A espécie apresenta limitações no acumulo de massa em folhas nas condições de Pinhais – PR, comparando os dados obtidos com os resultados em trabalhos prévios em regiões aonde as temperaturas médias são mais elevadas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O quimiotipo de *L. alba* registrado neste estudo faz desta planta uma espécie aromática promissora para seu cultivo, pelos altos teores de linalol (43 - 92 %), já que este composto é utilizado na indústria cosmética. Além disto é uma espécie nativa das Américas.

A forma de crescimento deste quimiotipo dificulta as práticas de capina e colheita. Por tanto, pesquisas onde se avalie épocas de colheita com intervalos menores poderão resultar em menor crescimento das plantas, facilitando o manejo. Estas épocas de colheita poderiam estar direcionadas em maximizar a relação massa secas de folhas/massa seca total da planta no ano.

Estas diferenças nos resultados de cada uma das procedências devem ser levadas em consideração para aumentar a produção, principalmente visando unir em uma espécie as características de produção de massa foliar, teor e produtividade de óleo essencial.

Práticas que resultem em maior acúmulo de massa, a partir da definição de densidade de plantio adequado, por exemplo, poderão viabilizar economicamente a produção de *L. alba* na região.

Novas pesquisas também serão necessárias para conhecer qual das estruturas isoméricas (3R-(-)- Linalol ou 3S- (+)-Linalol) está presente no óleo essencial das procedências de *L. alba* cultivadas em Pinhais- PR, devido a suas diferentes características olfativas que cada uma destas estruturas possui.

Apesar do teor e produtividade nas duas colheitas não terem sido comparados estatisticamente, observou-se uma tendência da procedência “Muzambinho” em apresentar menores valores de massa seca de folhas nas duas colheitas.

Apesar do aumento da relação MS folha/MS total na segunda colheita a MS ramos teve uma grande redução, assim como a MS em folhas. A relação MS folhas/MS total passou de 0,25 - 0,29 na primeira colheita para 0,34 – 0,50 na segunda colheita (Tabela 5 e Tabela 11). Destacou-se a procedência “Piracicaba” por ter o maior valor nas duas colheitas, maio (0,29) e outubro (0,50). Assim mesmo

se ressalta que esta procedência não se destacou nem no maior teor e nem na maior produtividade.

A procedência “Brasília 2” apresentou maiores teores de linalol nas duas colheitas, maio (92,19%) (Tabela 8) e outubro (76,56%) (Tabela 14) e por tanto, novos estudos com esta procedência poderão ser direcionados para a produção de linalol.

Em Pinhais- PR as plantas tiveram épocas diferentes de acúmulo de biomassa, onde a primeira colheita foi realizada no outono (Maio-09) e a segunda na primavera (Outubro-09). Nos primeiros cinco meses dez-08 a mai -09 houve temperaturas entre 17,6 ºC ± 10,5 e entre os meses de mai-09 a out-09 as temperaturas atingiram valores de 13ºC ± 11,5. Fato importante que pode ter influenciado nos resultados diferentes de teor e produtividade obtidos. Fatores ambientais como temperatura, intensidade luminosa influenciam indiretamente ou diretamente na produção do óleo essencial.

Outro fato que pode ter influenciado nas diferenças observadas no teor do óleo essencial de *L. alba* é o estado fenológico da planta. Neste estudo não foram realizados análises sobre esta variável, nas duas avaliações foram omitidas as inflorescências e se teve a precaução de não usá-las na hidrodestilação.

ANEXOS

Anexo 1. ANOVA para comprimento do ramo principal na primeira colheita durante cinco períodos consecutivos em intervalos de 15 dias (maio -2009).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Fator1(F1)	8	30156.89453	3769.61182	4.9506 **
Fator2(F2)	4	429565.982	107391.495	141.0371 **
Int. F1xF2	32	3718.77855	116.21183	0.1526 ns
Tratamentos	44	463441.655	10532.76491	13.8327 **
Blocos	3	3763.87858	1254.62619	1.6477 ns
Resíduo	132	100510.26023	761.44137	
Total	179	567715.7946		
CV% =	14.692			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 2. ANOVA para número de folhas do ramo principal na primeira colheita durante cinco períodos consecutivos em intervalos de 15 dias (maio -2009)

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Fator1(F1)	8	1173.65826	146.70728	4.7233 **
Fator2(F2)	4	9726.39008	2431.59752	78.2862 **
Int. F1xF2	32	108.36618	3.38644	0.1090 ns
Tratamentos	44	11008.41452	250.19124	8.0550 **
Blocos	3	382.93984	127.64661	4.1096 **
Resíduo	132	4099.96999	31.06038	
Total	179	15491.32435		
CV% =	15.94828			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 3. ANOVA para número de ramos na primeira colheita durante cinco períodos consecutivos em intervalos de 15 dias (maio- 2009)

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Fator1(F1)	8	127.27901	15.90988	4.6098 **
Fator2(F2)	4	1170.34198	292.58549	84.7744 **
Int. F1xF2	32	71.32746	2.22898	0.6458 ns
Tratamentos	44	1368.94845	31.11246	9.0146 **
Blocos	3	45.12392	15.04131	4.3581 **
Resíduo	132	455.57747	3.45134	
Total	179	1869.64984		
CV% =	33.87476			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 4. ANOVA para Massa Seca de folhas g.planta^{-1} na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	24.05005	8.01668	0.3291 ns
Tratamentos	8	5991.00363	748.87545	30.7456 **
Resíduo	24	584 .57111	24 .35713	
Total	35	6599.62478		
CV%	6.69793			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 5. ANOVA para Massa Seca de ramos g.planta^{-1} na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	467.64635	155.88212	1.0711 ns
Tratamentos	8	59277.76704	7409.72088	50.9145 **
Resíduo	24	3492 .78437	145 .53268	
Total	35	63238.19776		
CV%	6.05232			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 6. ANOVA para Massa Seca de folhas Kg.ha^{-1} na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	2405.00657	801.66886	0.3291 ns
Tratamentos	8	599100.35519	74887.54440	30.7457 **
Resíduo	24	58457 .08446	2435 .71185	
Total	35	659962.44622		
CV%	6.69793			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 7. ANOVA para Relação Massa Seca Folhas / Massa Seca Total na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.00028	0.00009	0.4573 ns
Tratamentos	8	0.00752	0.00094	4.6802 **
Resíduo	24	0.00482	0.00020	
Total	35	0.01261		
CV% =	5.22442			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 8. ANOVA para Teor µL.g M.S.$^{-1}$ na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	5.06270	1.68757	1.1123 ns
Tratamentos	8	146.63354	18.32919	12.0810 **
Resíduo	24	36.41274	1.51720	
Total	35	188.10898		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 9. ANOVA para Produtividade de óleo essencial L.ha^{-1} na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	2.07388	0.69129	0.5911 ns
Tratamentos	8	101.19123	12.64890	10.8164 **
Resíduo	24	28 .06594	1 .16941	
Total	35	131.33105		
CV%	15.52004			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 10. ANOVA para porcentagem de Linalol na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	112.82208	37.60736	1.0398 ns
Tratamentos	8	1138.62147	142.32768	3.9351 **
Resíduo	24	868.03990	36.16833	
Total	35	2119.48345		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 11. ANOVA para produtividade de linalol (L.ha^{-1}) na primeira colheita aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.76517	0.25506	0.2554 ns
Tratamentos	8	69.40167	8.67521	8.6865 **
Resíduo	24	23 .96881	0 .99870	
Total	35	94.13566		
CV%	18.07955			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 12. ANOVA para Massa Seca de folhas g.planta^{-1} da rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	4.89474	1.63158	0.3354 ns
Tratamentos	8	487.32831	60.91604	12.5233 **
Resíduo	24	116 .74147	4 .86423	
Total	35	608.96452		
CV%	6.31258			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 13. ANOVA para Massa Seca de ramos grama/planta da rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	11.51682	3.83894	0.2247 ns
Tratamentos	8	3344.61087	418.07636	24.4697 **
Resíduo	24	410 .05085	17 .08545	
Total	35	3766.17854		
CV%	8.09549			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 14. ANOVA para Massa Seca de folhas Kg.ha^{-1} da rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	489.47598	163.15866	0.3354 ns
Tratamentos	8	48732.81063	6091.60133	12.5233 **
Resíduo	24	11674 .13526	486 .42230	
Total	35	60896.42187		
CV%	6.31258			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 15. ANOVA para Massa Seca de Folhas / Massa Seca total da rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.00008	0.00003	0.0452 *
Tratamentos	8	0.08584	0.01073	18.6530 *
Resíduo	24	0.01381	0.00058	
Total	35	0.09973		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 16. ANOVA para Teor µL.g M.S.$^{-1}$ da rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	4.18050	1.39350	1.8690 ns
Tratamentos	8	17.06420	2.13303	2.8609 *
Resíduo	24	17 .89389	0 .74558	
Total	35	39.13860		
CV%	11.12966			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 17. ANOVA para Produtividade L.ha^{-1} da rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.44999	0.15000	1.2727 ns
Tratamentos	8	2.32750	0.29094	2.4685 *
Resíduo	24	2 .82867	0 .11786	
Total	35	5.60616		
CV%	12.74450			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 18. ANOVA para porcentagens de linalol na rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	78.64838	26.21613	3.4534 *
Tratamentos	8	1903.39551	237.92444	31.3412
Resíduo	24	182.19405	7.59142	
Total	35	2164.23795		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 19. ANOVA para litros de linalol por hectare da rebrota aos 150 dias

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.28831	0.09610	1.8172 ns
Tratamentos	8	3.82743	0.47843	9.0465 **
Resíduo	24	1 .26924	0 .05289	
Total	35	5.38498		
CV%	14.08287			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 20. ANOVA do constituinte 1-8 cineol do OE de *L. alba* na primeira avaliação (maio/09)

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	4.56768	1.52256	1.0072 ns
Tratamentos	8	119.74519	14.96815	9.9014 **
Resíduo	24	36.28144	1.51173	
Total	35	160.59431		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 21. ANOVA do constituinte trans-cariofileno do OE de *L. alba* na primeira avaliação (maio/09)

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	2.62215	0.87405	1.2393 ns
Tratamentos	8	22.03409	2.75426	3.9051 **
Resíduo	24	16.92713	0.70530	
Total	35	41.58337		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 22. ANOVA do constituinte Oxido de cariofileno do OE de *L. alba* na primeira avaliação (maio/09)

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	6.62837	2.20946	1.5467 ns
Tratamentos	8	7.62830	0.95354	0.6675 ns
Resíduo	24	34.28306	1.42846	
Total	35	48.53973		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 23. ANOVA do constituinte 1-8 cineol do OE de *L. alba* na rebrota (out/09).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	3.64915	1.21638	0.8397 ns
Tratamentos	8	301.88806	37.73601	26.0514 **
Resíduo	24	34.76454	1.44852	
Total	35	340.30175		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 24. ANOVA do constituinte alfa-terpineol do OE de *L. alba* na rebrota (out/09).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.73657	0.24552	1.2277 ns
Tratamentos	8	1.20328	0.15041	0.7521 ns
Resíduo	24	4.79979	0.19999	
Total	35	6.73964		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 25. ANOVA do constituinte neral do OE de *L. alba* na rebrota (out/09).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	1.59177	0.53059	2.7291 ns
Tratamentos	8	56.59665	7.07458	36.3880 *
Resíduo	24	4.66609	0.19442	
Total	35	62.85451		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 26. ANOVA do constituinte geranial do OE de *L. alba* na rebrota (out/09).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.89904	0.29968	1.2398 ns
Tratamentos	8	106.34630	13.29329	54.9959 **
Resíduo	24	5.80114	0.24171	
Total	35	113.04648		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 27. ANOVA do constituinte acetato de geranila do OE de *L. alba* na rebrota (out/09).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.14642	0.04881	0.2452 ns
Tratamentos	8	4.88801	0.61100	3.0694 *
Resíduo	24	4.77743	0.19906	
Total	35	9.81185		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 28. ANOVA do constituinte beta-cariofileno do OE de *L. alba* na rebrota (out/09).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	0.20580	0.06860	0.3835 ns
Tratamentos	8	0.66233	0.08279	0.4628 ns
Resíduo	24	4.29349	0.17890	
Total	35	5.16163		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Anexo 29. ANOVA do constituinte oxido de cariofileno do OE de *L. alba* na rebrota (out/09).

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	1.02856	0.34285	1.9103 ns
Tratamentos	8	2.36059	0.29507	1.6441 ns
Resíduo	24	4.30735	0.17947	
Total	35	7.69650		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)
* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05)
ns não significativo (p >= .05)

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo