

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**INFLUÊNCIA AMBIENTAL E DE PARÂMETROS AGRONÔMICOS NA
PRODUÇÃO DE POEJO (*Cunila galioides* Benth.)**

**Gabriel Fernandes Pauletti
Engenheiro Agrônomo**

**Tese apresentada como um dos requisitos à
obtenção do grau de Doutor em Fitotecnia
Área de Concentração Horticultura**

**Porto Alegre (RS), Brasil
Dezembro de 2005**

Dedico esta tese aos meus pais Lori e Idacyr Pauletti e a minha esposa Luciana.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente a todas as pessoas e instituições que contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

- À Doutora Ingrid Bergman I. de Barros pela orientação, amizade e compreensão;
- Aos professores e amigos Dr^a Luciana Atti Serafini e Dr. Sergio Echeverrigaray, pela ajuda constante no desenvolvimento do trabalho;
- Aos professores, colegas, estagiários e funcionários do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, especialmente do Laboratório de Óleos Essenciais;
- À Universidade de Caxias do Sul pela possibilidade de desenvolvimento do trabalho;
- Aos professores, colegas, estagiários e funcionários da Faculdade de Agronomia da Universidade do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós Graduação em Fitotecnia que viabilizou a realização deste doutorado;
- À Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e Missões (URI – Erechim); EMBRAPA – CPACT, Fazenda Violeta (Grupo Petropar) e Prefeitura Municipal de Santa Vitória do Palmar pela disponibilidade das áreas experimentais e auxílio na condução dos experimentos;
- A minha esposa Luciana pela ajuda, compreensão e companheirismo.

INFLUÊNCIA AMBIENTAL E DE PARÂMETROS AGRONÔMICOS NA PRODUÇÃO DE POEJO (*Cunila galioides* Benth.)¹

Autor: Gabriel Fernandes Pauletti
Orientadora: Ingrid Bergman I. de Barros

RESUMO

Cunila galioides (Lamiaceae), conhecida popularmente como poejo, é uma planta nativa encontrada em regiões de campos de altitude do sul do Brasil. Devido suas propriedades químicas é empregada na medicina popular e apresenta potencialidades de utilização como planta aromática, visando a extração do óleo essencial. Neste sentido, foram desenvolvidos quatro experimentos com o objetivo de gerar subsídios para a exploração comercial desta espécie, avaliando a influência de alguns parâmetros agronômicos e ambientais na produção quantitativa e qualitativa em três quimiotipos. Os experimentos desenvolvidos incluíram a propagação sexuada e assexuada, diferentes níveis de calagem aplicada ao substrato, distintos níveis de alumínio em hidroponia e o cultivo em condições de campo em cinco regiões agroecológicas no Rio Grande do Sul utilizando-se nove populações. Os resultados demonstraram que é possível realizar a propagação por sementes ou estaquia. A taxa de germinação de sementes é baixa, aumentando consideravelmente utilizando-se tratamentos de superação de dormência. A estaquia mostrou-se eficiente, mesmo sem a utilização de hormônios, indicando que o poejo é uma espécie de fácil enraizamento. A calagem mostrou efeito na produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial, ocorrendo interação entre quimiotipo e dosagem de calcário. Foram observadas diferenças de tolerância ao alumínio entre os quimiotipos com aumento na concentração de flavonóides nas populações tolerantes. O cultivo em cinco regiões do Estado mostrou diferenças de produção de biomassa entre as populações e entre os locais, ocorrendo interação genótipo x ambiente. A composição química do óleo essencial das populações manteve-se praticamente estável, em todos os locais, com algumas variações. Observou-se, uma maior concentração de sesquiterpenos em alguns óleos essenciais que pode ser atribuída ao estresse ambiental.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (152 p.) Dezembro, 2005.

THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL AND AGRONOMIC VARIABLES ON THE PRODUCTION PARAMETERS OF *Cunila galioides* Benth.¹

Author: Gabriel Fernandes Pauletti

Adviser: Ingrid Bergman I. de Barros

ABSTRACT

Cunila galioides (Lamiaceae), popularly known as poejo, is a native plant found in high altitude field regions in southern Brazil. Due to its chemical properties it is used in popular medicine and presents potentials for use as an aromatic plant for the extraction of essential oil. Thus, four experiments were developed, for the purpose of generating further information for the commercial use of this species, evaluating the influence of a few agronomic and environmental parameters on the quantitative and qualitative production in three chemotypes. The experiments developed included sexual and asexual propagation, different levels of liming applied to the substrate, different levels of aluminium in hydroponics, and cultivation in field conditions in five agroecological regions of Rio Grande do Sul, using nine populations. The results showed that it is possible to perform propagation by means of seeds and cuttings. The seed germination rate is low, increasing considerably when treatments are used to overcome dormancy. Cuttings proved efficient, even without using hormones, indicating that poejo is a species that takes root easily. Liming had an effect on biomass production, content and chemical composition of essential oil, with interaction between chemotype and lime dosage. Differences in aluminium tolerance were observed among the chemotypes with increased flavonoid concentration in the tolerant populations. Cultivation in five regions of the state showed differences in biomass production among the populations and among the locations, with genotype x environment interaction. The chemical composition of essential oil in the populations remained practically stable at all locations. A higher concentration of sesquiterpenes was observed in some essential oils that can be attributed to environmental stress.

¹ Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (152 p.) December, 2005.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Biodiversidade e importância das plantas aromáticas e medicinais.....	4
1.2. Óleos essenciais, formas de obtenção e identificação.....	8
1.3. O gênero <i>Cunila</i> Royen ex L.	12
1.4. A espécie <i>Cunila galioides</i> Benth.	13
1.5. Fatores que afetam a produção de plantas aromáticas e medicinais.....	16
1.6. Referências Bibliográficas.....	20
CAPÍTULO II: Propagação de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.): uma espécie aromática e medicinal nativa do Sul do Brasil.....	25
Resumo.....	25
Abstract.....	25
2.1. Introdução.....	26
2.2. Materiais e Métodos.....	30
2.3. Resultados e Discussão.....	32
2.4. Conclusões.....	37
2.5. Referências Bibliográficas.....	38
CAPÍTULO III: Produção de biomassa e óleo essencial de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) frente a diferentes níveis de calagem.....	41
Resumo.....	41
Abstract.....	42
3.1. Introdução.....	42
3.2. Materiais e Métodos.....	44
3.3. Resultados e Discussão.....	47
3.4. Conclusões.....	58
3.5. Referências Bibliográficas.....	59
CAPÍTULO IV: Produção de biomassa, flavonóides e óleo essencial em três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas ao estresse por alumínio.....	62
Resumo.....	62
Abstract.....	62
4.1. Introdução.....	63
4.2. Materiais e Métodos.....	65
4.3. Resultados e Discussão.....	69

4.4. Conclusões.....	80
4.5. Referências Bibliográficas.....	81
CAPÍTULO V: Produção de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) em cinco Regiões Agroecológicas no Rio Grande do Sul.....	
Resumo.....	80
Abstract.....	81
5.1. Introdução.....	81
5.2. Materiais e Métodos.....	83
5.3. Resultados e Discussão.....	88
5.3.1. Condições edafoclimáticas em cada local de cultivo.....	92
5.3.2. Produção de biomassa e óleos essenciais.....	96
5.3.3. Estabilidade e adaptabilidade das populações de poejo.....	105
5.3.4. Produção de poejo no segundo ano de cultivo.....	108
5.3.5. Composição química do óleo essencial.....	111
5.4. Conclusões.....	117
5.5. Referências Bibliográficas.....	118
6. CONCLUSÕES GERAIS.....	121
7. APÊNDICES.....	123

RELAÇÃO DE TABELAS

CAPÍTULO II: Propagação de poejo (*Cunila galioides* Benth.): uma espécie aromática e medicinal nativa do Sul do Brasil.

Tabela 1. Valores médios para os diferentes parâmetros de produção avaliados em plantas de poejo submetidas ao enraizamento com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (ABA).....	33
--	----

CAPÍTULO III: Produção de biomassa e óleo essencial de poejo (*Cunila galioides* Benth.) frente a diferentes níveis de calagem.

Tabela 1. Quantidade de calcário aplicada, pH desejado e pH atingido em substrato utilizado para cultivo de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.).....	47
--	----

Tabela 2. Análise química do substrato original e submetido à calagem para a adequação do pH e definição dos tratamentos, após 30 dias de incubação.....	48
--	----

Tabela 3. Resumo da análise de variância (ANOVA) para o parâmetro matéria seca aérea (MSA) de três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas com diferentes doses de calcário. Caxias do sul, abril de 2004.....	49
---	----

Tabela 4. Valores médios para matéria seca da parte aérea (MSA-g . planta ⁻¹) para três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas em substrato que recebeu distintas doses de calcário. Caxias do Sul, 2004.....	51
---	----

Tabela 5. Resumo da análise de variância (ANOVA) para teor de óleo essencial das populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas em substrato com distintas doses de calcário.....	52
---	----

CAPÍTULO IV: Produção de biomassa, flavonóides e óleo essencial em três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas ao estresse por alumínio.

Tabela 1. Composição da solução nutritiva utilizada, modificada a partir de Waard (1969).....	66
---	----

Tabela 2. Resumo da análise de variância (ANOVA) para os parâmetros avaliados nas três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio.....	69
--	----

Tabela 3. Resultados médios de matéria seca radicial de plantas de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas sob diferentes níveis de Al. Caxias do Sul, 2003	70
Tabela 4. Efeitos da interação dos fatores alumínio e população no comprimento radicial de plantas de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva, Caxias do Sul, 2003.....	72
Tabela 5. Resumo da análise de variância (ANOVA) para teor de óleo essencial e concentração do componente majoritário nas três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva.....	74
Tabela 6. Quantidade média de flavonóides (gramas de rutina /100 g de material vegetal seco) em três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva. Caxias do Sul. 2004.....	75
Tabela 7. Teor de óleo essencial e concentração dos componentes majoritários nas três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio na solução nutritiva.....	78
CAPÍTULO V: Produção de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) em cinco Regiões Agroecológicas no Rio Grande do Sul.	
Tabela 1. Local de coleta e quimiotipo de nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) utilizadas no estudo. Caxias do Sul, 2005.....	88
Tabela 2. Localização geográfica e características edafoclimáticas de cada localidade onde foi realizado o cultivo de nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.).....	89
Tabela 3. Datas de plantio e colheita e período de cultivo de nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) em cada localidade.....	90
Tabela 4. Análise química dos solos nas parcelas experimentais de cada local de cultivo, dezembro de 2003.....	95
Tabela 5. Resumo da análise de variância (ANOVA) para rendimento de matéria seca e óleo essencial para as populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas em cinco localidades do RS, 2003/2004.....	97
Tabela 6. Rendimento estimado de biomassa seca (Kg . ha ⁻¹) de nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas em cinco localidades do Rio Grande do sul, 2003/2004.....	98

Tabela 7. Plantas de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) perdidas (%) em cada área experimental, em cada localidade, trinta dias após o plantio. Janeiro de 2004.....	100
Tabela 8. Teor de óleo essencial (% v/m) das nove populações de poejo cultivadas em cinco regiões agroclimáticas do Rio Grande do Sul.....	102
Tabela 9. Rendimento de óleo essencial estimado ($L \cdot ha^{-1}$) nas nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	104
Tabela 10. Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade segundo método proposto por Eberhart e Russel (1966), para rendimento de biomassa ($Kg \cdot ha^{-1}$), em populações de poejo cultivadas em cinco regiões agroclimáticas do RS, 2003/2004.....	106
Tabela 11. Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade segundo método proposto por Eberhart e Russel (1966), para rendimento de óleo essencial ($L \cdot ha^{-1}$), em populações de poejo cultivadas em cinco regiões agroclimáticas do RS, 2003/2004.....	106
Tabela 12. Resumo da análise de variância (ANOVA) para rendimento de biomassa seca das nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) em dois anos de cultivo, Erechim, 2004/2005.....	109
Tabela 13. Produção média de biomassa ($Kg \cdot ha^{-1}$) e óleo essencial ($L \cdot ha^{-1}$) em nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) em dois anos de cultivo, Erechim-RS, 2004/2005.....	110
Tabela 14. Concentração (média \pm DP) dos componentes químicos identificados em nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas em cinco regiões agroecológicas no Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	116

RELAÇÃO DE FIGURAS

CAPÍTULO I: Influência ambiental e de parâmetros agronômicos na produção de poejo (*Cunila galioides* Benth.).

- Figura 1. Rota biossintética dos metabólitos secundários adaptado de Santos (2001)..... 6
- Figura 2. Rota biossintética clássica dos terpenóides, via ácido mevalônico, adaptado de Harbone (1997). C-carbono..... 9
- Figura 3. Planta de poejo (*Cunila galioides* Benth.) na fase de floração em local de ocorrência natural. São Francisco de Paula - RS, abril de 2004..... 14

CAPÍTULO II: Propagação de poejo (*Cunila galioides* Benth.): uma espécie aromática e medicinal nativa do sul do Brasil.

- Figura 1. Matéria seca da parte aérea (MSA) de estacas de poejo (*Cunila galioides* Benth.) tratadas com distintas doses de ácido indolbutírico (AIB) 45 dias após o enraizamento..... 34
- Figura 2. A - Porcentagem média de germinação (CV = 30%) e B - Índice de velocidade de germinação (IVG) (CV= 52%) de sementes de poejo tratadas com distintos tratamentos para superar dormência. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %... 35
- Figura 3. Taxa de Germinação (%) acumulada de sementes de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a diferentes tratamentos para superar dormência..... 36

CAPÍTULO III: Produção de biomassa e óleo essencial de poejo (*Cunila galioides* Benth.) frente a diferentes níveis de calagem.

- Figura 1. Resposta média de três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) para matéria seca da parte aérea (PMSA) à aplicação de diferentes doses de calcário ao substrato com pH original 4,5. Caxias do Sul, 2004..... 51

Figura 2. Efeito da interação entre população de poejo e dosagem de calcário aplicada no substrato sobre o teor de óleo essencial (%v/m). AR- André da Rocha; SL- Santa Lúcia; BJ- Bom Jardim da Serra. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula entre populações e minúscula entre dosagens, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1%.....	52
Figura 3. Teor de citral na população André da Rocha cultivada em distintas faixas de pH do substrato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % (CV= 7,06%).....	54
Figura 4. Concentração dos componentes majotitários limoneno (CV= 27,78 %); 1,3, 8 mentatrieno (CV= 14,88 %); borneol (CV= 10,28%) e 1, 2, 8, mentatrieno (CV=12,58%) presentes no óleo essencial da população Santa Lúcia cultivada em substrato com distintas doses de calcário. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.....	54
Figura 5. Concentração de citral e limoneno no óleo essencial das populações Santa Lúcia e André da Rocha, respectivamente, cultivadas sob distintas doses de calcário.....	55
Figura 6. Concentração dos componentes majoritários ledeno (CV= 3,70%) e cariofileno (CV= 7,99%) presentes no óleo essencial da população Bom Jardim da Serra cultivada em substrato com distintas doses de calcário. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %.....	57
CAPÍTULO IV: Produção de biomassa, flavonóides e óleo essencial em três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas ao estresse por alumínio	
Figura 1. Valores médios para massa seca aérea (barras negras) e nota de raiz (barras brancas) entre as populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) (1A) e entre os diferentes níveis de alumínio na solução nutritiva (1B). AR- André da Rocha; SL – Santa Lúcia; BJ – Bom Jardim da Serra.....	71
Figura 2. Concentração média de alumínio (A) e cálcio (B) no tecido vegetal das três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.), submetidas a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva. Caxias do Sul, 2003.....	73
Figura 3. Relação entre a concentração média de flavonóides totais e massa seca radicial (MSR) média nas três populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio na solução nutritiva.....	77

CAPÍTULO V: Produção de poejo (*Cunila galioides* Benth.) em cinco Regiões Agroecológicas no Rio Grande do Sul

Figura 1. Precipitação pluviométrica mensal ocorrida nas cinco localidades onde foram conduzidos os cultivos de poejo (<i>Cunila galioides</i> benth.), 2003/2004.....	93
Figura 2. Temperatura média mensal em quatro localidades onde foi conduzido o cultivo de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.), 2003/2004.....	94
Figura 3. Representação gráfica para adaptabilidade e estabilidade para produção de biomassa. (A) População André da Rocha mostrando estabilidade específica a ambientes favoráveis. (B) População Santa Lúcia mostrando ampla adaptabilidade e alta estabilidade.....	107
Figura 4. Representação gráfica da adaptabilidade e estabilidade para produção de óleo essencial. (A). População André da Rocha mostrando estabilidade específica a ambientes favoráveis. (B) População Santa Lúcia mostrando ampla adaptabilidade e alta estabilidade.....	107
Figura 5. Precipitação pluviométrica média mensal ocorrida no município de Erechim durante o período de maio de 2004 a abril de 2005.....	108

APÊNDICES

APÊNDICE I. Estaca de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth) enraizada após 45 dias.....	123
APÊNDICE II. Caixa plástica utilizada como leito de enraizamento para a propagação de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.).....	124
APÊNDICE III. Germinação de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) em caixas gerbox, sob papel mataborrão, 21 dias após a semeadura. Sementes tratadas com 250 mg . L ⁻¹ de ácido giberélico.....	124
APÊNDICE IV. Vista geral do experimento com diferentes níveis de calagem aplicada ao substrato no momento do transplante. Caxias do Sul, setembro de 2003.....	125
APÊNDICE V. Vista geral do experimento com diferentes níveis de calagem aplicada ao substrato no momento da primeira colheita. Caxias do Sul, dezembro de 2003.....	125
APÊNDICE VI. Vista geral do sistema hidropônico utilizado para o cultivo de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) com distintas concentrações de alumínio na solução nutritiva.....	126
APÊNDICE VII. População Bom Jardim da Serra (A) e população André da Rocha (B) no final do experimento hidropônico com distintas concentrações de alumínio na solução nutritiva.....	126
APÊNDICE VIII. Vista geral do experimento à campo, na localidade de São Francisco de Paula –RS, no momento do plantio. Dezembro de 2003.....	127
APÊNDICE IX. Colheita do experimento na localidade de Erechim-RS. Abril de 2004.....	127
APÊNDICE X. Composição química do óleo essencial da população André da Rocha cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	128
APÊNDICE XI. Composição química do óleo essencial da população Bom Jardim da serra cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	128

APÊNDICE XII. Composição química do óleo essencial da população Santa Lúcia cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	129
APÊNDICE XIII. Composição química do óleo essencial da população Lages cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	129
APÊNDICE XIV. Composição química do óleo essencial da população Cambará cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	130
APÊNDICE XV. Composição química do óleo essencial da população Capão Alto cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	130
APÊNDICE XVI. Composição química do óleo essencial da população São Joaquim cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	131
APÊNDICE XVII. Composição química do óleo essencial da população Muitos Capões cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	131
APÊNDICE XVIII. Composição química do óleo essencial da população São Joaquim 2 cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	132
APÊNDICE XIX. Perfis cromatográficos característicos do óleo essencial de nove populações de poejo (<i>Cunila galioides</i> Benth.) cultivadas no Rio Grande do Sul, 2003/2004.....	132
A - População André da Rocha cultivada em Caxias do Sul.....	132
B - População Muitos Capões cultivada em Pelotas.....	133
C - População Bom Jardim da Serra cultivada em Erechim.....	133
D - População Capão Alto cultivada em Santa Vitória do Palmar.....	134
E- População Cambará cultivada em Caxias do Sul.....	134
F - População Lages cultivada em Caxias do Sul.....	135
G - População Santa Lúcia Cultivada em Erechim.....	135
H - População São Joaquim 1 cultivada em São Francisco de Paula....	136
I - População São Joaquim 2 cultivada em Pelotas.....	136

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é reconhecido internacionalmente como um centro de biodiversidade, especialmente no que diz respeito a plantas medicinais. A Floresta Amazônica e a Floresta Atlântica são as duas regiões com maior número de espécies vegetais do país e algumas das maiores reservas biológicas do mundo. A região da Mata Atlântica, em particular, tem sido muito afetada pelo homem, restando apenas alguns focos da mata original, sendo fundamentais maiores esforços de resgate e domesticação de espécies vegetais, com potencial de utilização, ainda desconhecidas, ou em risco de extinção.

O Rio Grande do Sul está localizado em uma região que apresenta peculiaridades climáticas, quando comparada com outras regiões do país, tendo algumas espécies aromáticas e medicinais características. Seu clima temperado, associado às condições edafológicas e culturais, possibilita o cultivo de inúmeras espécies aromáticas exóticas, produtoras de óleos essenciais, mundialmente utilizados. Essas espécies são cultivadas há vários anos em nosso Estado como, por exemplo: sálvia (*Salvia officinalis* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), menta (*Mentha piperita* L., *Mentha arvensis* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), capim-

limão (*Cymbopogon citratus* Staff), citronela (*Cymbopogon wintherianus* Jowitt), camomila (*Chamomilla recutita* (L.) Rauch.), entre outras.

Com relação às nativas, nosso Estado apresenta diversas espécies medicinais e aromáticas, muitas delas produtoras de óleos essenciais, como é o caso da alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.), erva-cidreira-brasileira (*Lippia alba* (Mill) N.E. Brown) e muitas espécies do gênero *Cunila* destacando-se, dentre elas, o poejo (*Cunila galioides* Benth.).

O poejo é uma planta aromática e medicinal muito utilizada na medicina popular no tratamento de diversas afecções. Na composição química do óleo essencial apresenta uma ampla variedade de compostos de interesse industrial. Um destes compostos é o citral, encontrado em grande quantidade no seu óleo essencial. Este componente químico é formado pela mistura de dois monoterpenos (neral e geranial) e devido ao seu intenso aroma de limão é muito utilizado nas indústrias de alimentos e cosmética.

Sabe-se que ocorre grande variação na composição química dos óleos essenciais devido a diversos fatores, entre eles os genéticos, ecológicos e tecnológicos. A qualidade que se busca em um óleo essencial é determinada por sua composição química, onde esta deve ser conhecida em cada espécie e população, por uma profunda investigação prévia.

Nas últimas décadas, pesquisas indicaram que muitas das espécies da flora aromática estão formadas por duas ou mais variedades químicas ou quimiotipos, ou seja, espécies morfológicamente idênticas, porém quimicamente distintas. Tem-se estabelecido por vezes, uma correlação estreita entre os quimiotipos e seu “habitat”, no entanto, isto não ocorre para todas as espécies, visto que, é comum encontrar

diversos quimiotipos de uma mesma espécie convivendo conjuntamente na mesma localidade.

Atualmente na área de produtos naturais, em particular nos óleos essenciais, busca-se alta qualidade e padronização nos produtos obtidos, o que é conseguido evitando-se a variabilidade pela racionalização dos cultivos, selecionando espécies não só por características produtivas, mas também pela qualidade do óleo essencial.

Ao se estabelecer estes cultivos deve-se ter em conta também a influência que podem exercer sobre os óleos essenciais os fatores ambientais (altitude, solo e condições climáticas), nutrientes (tipo e quantidade), época de colheita e tecnologia produtiva.

Neste sentido diversos experimentos foram conduzidos com o objetivo de avaliar os possíveis efeitos ambientais e produtivos na produção de *Cunila galioides*, visando gerar informações tecnológicas para a produção de óleos essenciais.

1.1. Biodiversidade e importância das plantas aromáticas e medicinais

O conceito de biodiversidade é bastante amplo, podendo ser definido como a variedade e a variabilidade existentes entre organismos vivos e as complexidades ecológicas nas quais eles ocorrem (Guerra & Nodari, 2001). Ainda dentro deste conceito, pode ser definido o termo “produto natural”, que abrange os recursos de origem natural, incluindo plantas, microrganismos, animais e minerais, nesta ordem de importância (Soejardo, 1996).

Uma das principais características da biodiversidade é a distribuição relativa desigual dos seus componentes no espaço geográfico, existindo gradientes de biodiversidade, sendo óbvia a necessidade da conservação dos ecossistemas nos quais as diferentes espécies ocorrem e interagem (Guerra & Nodari, 2001).

Segundo Cragg et al. (1995) é urgente a necessidade da conservação de recursos naturais pelo desenvolvimento de metodologias sustentáveis de coleta e práticas culturais. Neste mesmo sentido, a perda da diversidade genética pode colocar em risco muitos recursos naturais aromáticos nativos. Por esta razão é necessária a realização de maiores esforços técnicos em ações de domesticação de plantas aromáticas com o propósito de resgatar recursos inexplorados (Bandoni, 2002).

Mais da metade de todas as espécies vegetais são encontradas nas florestas tropicais, principalmente nas florestas tropicais úmidas, que representam uma área de apenas 7% da superfície terrestre, sendo consideradas áreas prioritárias de

conservação. O Brasil é considerado o país que detém a maior diversidade genética do mundo, com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total mundial estimado entre 350.000 a 500.000 espécies (Soejardo, 1996; Guerra & Nodari, 2001).

Por outro lado, o Rio Grande do Sul, apresenta peculiaridades climáticas características, com clima temperado, períodos de baixas temperaturas, alta umidade e pluviosidade, quando comparadas com outras regiões do país. Assim sendo, algumas espécies vegetais são características desta região como, por exemplo, alguns representantes da família Lamiaceae, dentre eles, muito utilizados como plantas aromáticas e medicinais, os gêneros *Ocimum*, *Hyptis*, *Salvia* e *Cunila* (Fracaro, 2001).

As plantas são uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos, que se caracterizam pela habilidade de acumular uma ampla variedade de constituintes de baixo peso molecular, chamados de produtos do metabolismo secundário. Estes produtos são controlados pela expressão de genes biossintéticos, que codificam enzimas catalíticas, e, ainda, estimulados por sinais externos. Normalmente, são estocados em altas concentrações em estruturas específicas, como tricomas glandulares, ocorrendo em vários representantes da família Lamiaceae (Rhodes, 1994; Harborne, 1997).

Segundo Harborne (1997) as três maiores classes de metabólitos secundários, são: terpenóides (óleos essenciais, resinas), compostos contendo bases nitrogenadas (alcalóides) e compostos fenólicos (pigmentos de antocianina, flavonóides e taninos). Estes metabólitos são oriundos a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetil CoA (Santos, 2001) (Figura 1).

Alguns destes compostos estão relacionados à atração de polinizadores, defesa contra o ataque de herbívoros, proteção das plantas contra os raios UV e microrganismos patogênicos, auxiliando, ainda, a sobrevivência destas em ambientes hostis (Wink, 2003).

Para o homem, o metabolismo secundário das plantas contribui para a produção de produtos fármacos, cosméticos, fragrâncias, condimentos, corantes e inseticidas (Isman, 1999).

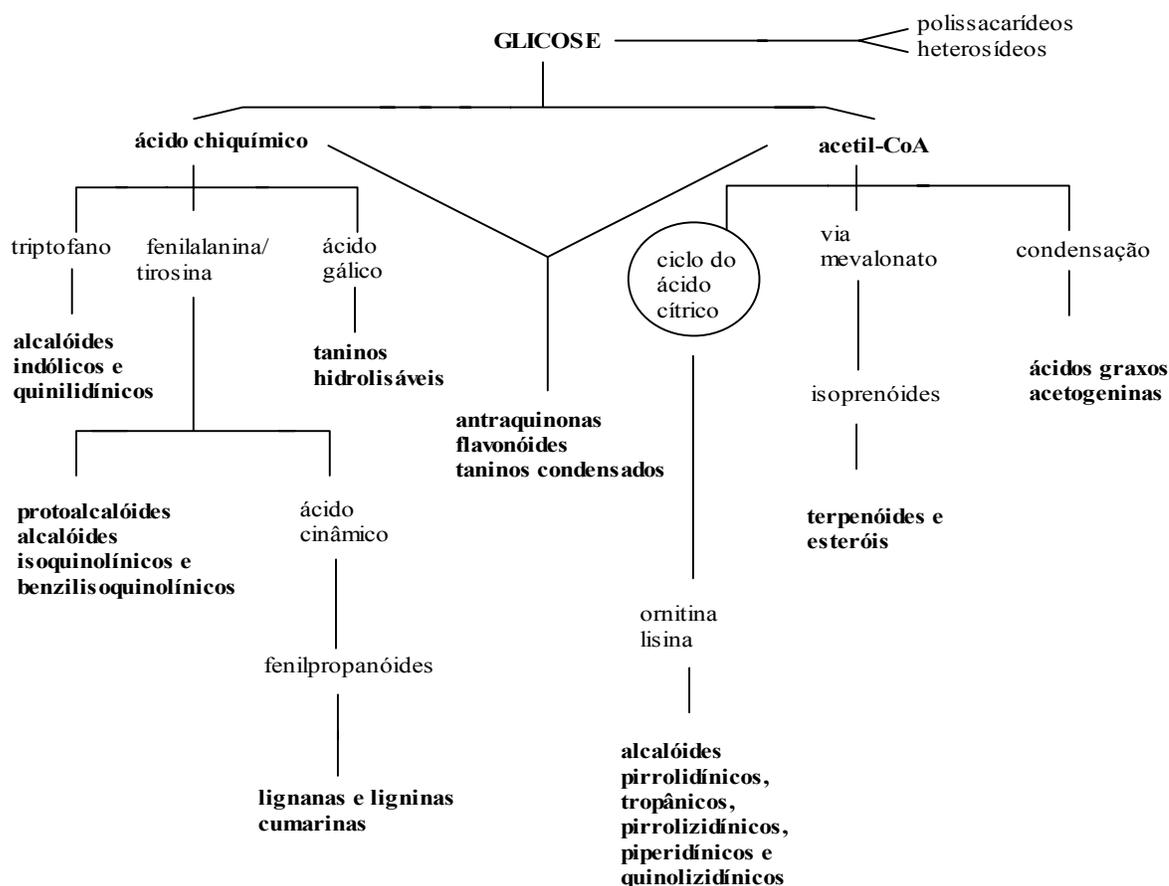


FIGURA 1. Rota biossintética dos metabólitos secundários, adaptado de Santos (2001).

No Brasil, o uso de plantas para fins medicinais iniciou com as populações indígenas. Posteriormente, os colonizadores trouxeram a influência das plantas européias, fazendo com que houvesse uma associação destas plantas com nossas plantas nativas. A vinda de franceses e holandeses também influenciou, de alguma forma, o uso de nossa flora medicinal, mas foi com a vinda dos escravos africanos que diversas espécies vegetais foram introduzidas e incorporadas ao uso popular brasileiro. Mais recentemente a vinda de imigrantes europeus (alemães, italianos, espanhóis, poloneses) introduziu uma série de espécies que se aclimataram perfeitamente, principalmente no clima temperado do sul do Brasil, como por exemplo, a camomila (*Chamomilla recutita*), a melissa (*Melissa officinalis*) e a calêndula (*Calendula officinalis*), dando origem, assim, à medicina popular (Simões et al., 1998; Vieira, 2002).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial recorre às plantas medicinais como forma de medicamento, principalmente nos países do terceiro mundo (Prance, 1991; Farnsworth, 1994). Nas últimas décadas, tem aumentado consideravelmente, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, a utilização de plantas na forma de medicamentos fitoterápicos, sendo as vendas destes produtos estimadas em 60 bilhões de dólares no ano de 2000 (Zhang, 2003). Em nosso país, vários programas estão sendo implantados, visando à utilização de plantas medicinais na rede de saúde pública, como ocorre nos estados do Ceará, Pernambuco, Paraná e Rio Grande do Sul (Programa Rede Fito-RS), utilizando plantas nativas e exóticas aclimatadas em cada região (Araújo, 2002; Corrêia Jr et al., 2002).

As plantas aromáticas e medicinais podem ser utilizadas de diversas formas: como material fresco (*in natura*), material desidratado (inteiro, picado ou moído) ou na forma de extratos, onde destacam-se, pela ampla aplicação industrial, os óleos essenciais.

1.2. Óleos essenciais: formas de obtenção e identificação

Define-se óleos essenciais como a parte do metabolismo vegetal, composto geralmente por terpenos, que estão associados a outros compostos, normalmente voláteis, que geram, em conjunto, o aroma característico do vegetal (Bandoni, 2002). De acordo com Isman (1999), também podem ser conceituados como a fração das plantas extraída com vapor de água, constituída, geralmente, por terpenos de baixo peso molecular (a partir do ácido mevalônico) ou derivados de fenilpropanóides (a partir do ácido chiquímico).

Os terpenóides são formados a partir da acetil coenzima A, via ácido mevalônico, isopentenil pirofosfato (IPP) e dimetilalil pirofosfato (DMAPP), distinguindo-se de outras classes de metabólitos secundários por sua origem biossintética (Harbone, 1997) (Figura 2).

Lange (1998) propôs a existência de uma rota biossintética alternativa para IPP, independente da rota clássica via mevalonato, a partir do piruvato, que atualmente é aceita como a via exclusiva de biossíntese de monoterpenos em plantas do ácido pirúvico (McCaskill & Croteau, 1995; Eisenreich et al., 1997).

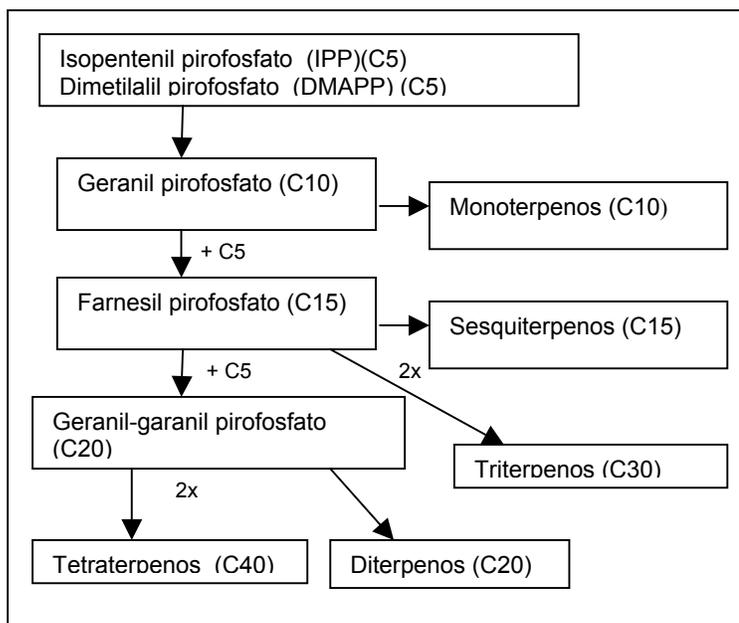


FIGURA 2. Rota biossintética alternativa para IPP, via piruvato, adaptado de Harbone (1997). C – carbono; IPP - isopentenil pirofosfato.

Segundo West (1992) os terpenóides são classificados de acordo com o número de unidades de 5 carbonos (C5), formando os monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) e politerpenos (C >40) (Figura 2).

Os óleos essenciais podem ser encontrados em todos os órgãos vegetais: nas flores (lavandas e camomila), nas folhas (louro), nas raízes (vetiver), nos rizomas (gingibre), nas cascas (canela), nos frutos (anis) e nas sementes (noz moscada), podendo variar sua concentração e composição na mesma planta, de acordo com a localização no órgão (Bruneton, 1991).

Apresentam, ainda, propriedades características como a insolubilidade na água e solubilidade em solventes orgânicos, as quais permitem caracterizá-los e promovem seu isolamento (Costa, 1994).

Os óleos essenciais podem ser obtidos por diferentes métodos, sendo os principais, a destilação com água (hidrodestilação), a destilação com vapor (arraste a vapor) e a expressão (Lawrence, 1995). Os dois primeiros métodos necessitam de calor para a extração. Isto ocorre devido ao fato dos óleos voláteis apresentarem uma tensão de vapor mais elevada que a da água, sendo então arrastados (Santos, 2001). Além destes processos, destacam-se a extração por CO₂ supercrítico, e a extração por microondas (Bandoni, 2002).

A identificação dos componentes químicos dos óleos essenciais normalmente é realizada pelos seguintes métodos: cromatografia em camada delgada (CCD); cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM); cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN ¹³C), sendo as análises cromatográficas as mais freqüentemente utilizadas (Santos, 2001).

A cromatografia gasosa (CG) é utilizada para separar e quantificar substâncias componentes de óleos voláteis. Este método é baseado na separação dos componentes de uma mistura líquida ou gasosa a qual é volatilizada em uma coluna preenchida com uma fase líquida absorvida (fase estacionária); a fase móvel é constituída por nitrogênio ou gás hélio que carregam os compostos voláteis através da coluna, localizada em um forno com condições de temperatura previamente programadas. Os componentes da mistura são separados devido às diferenças no coeficiente de partição, entre a fase gasosa e a fase líquida, onde os compostos com baixa afinidade com a fase estacionária são eluídos primeiro na coluna (Silva, 1995).

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) permite a separação dos compostos e fornece um espectro de massas para cada pico

indicando a massa molecular, que informa a classe da substância, e o padrão de fragmentação que pode ser comparado instantaneamente com espectros de massa contidos em livrarias computadorizadas para identificação (Simões et al., 2001).

Um grande número de compostos presentes nos óleos essenciais apresentam atividade biológica de interesse, tais como: ação antiinflamatória, inseticida, antiséptica, herbicida, antioxidante, entre outras. Como exemplos, pode-se citar o limoneno (inseticida); 1,8 cineol (alelopático e bactericida); linalol (antisséptico); timol (antiinflamatório) e o citral (anti-estamínico, bactericida, preventivo do câncer e herbicida) (Duke, 1994).

Dada a grande complexidade química de um óleo essencial, agregado à variabilidade genética das plantas, é comum encontrar uma grande variação química dentro da mesma espécie vegetal. São os chamados quimiotipos ou raças químicas, que são indivíduos de uma mesma espécie vegetal, que se diferenciam entre si por apresentarem diferentes composições químicas (Bandoni, 2002).

Diversas famílias botânicas são ricas em óleos essenciais, tais como: Asteraceae, Apiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Lamiaceae, entre outras (Bruneton, 1991; Simões & Spitzer, 2001). A família Lamiaceae merece destaque, pois nos mais de 200 gêneros que possui, grande parte (40%) apresenta propriedades aromáticas e medicinais, e são largamente utilizadas na indústria de óleos essenciais para os mais diferentes fins. Como exemplos, pode-se destacar algumas espécies dos gêneros *Mentha* (hortelã), *Lavandula* (alfazema), *Rosmarinus* (alecrim), *Salvia*, *Ocimum* (manjeriço), *Thymus* (tomilho), *Origanum* (orégano e manjerona) e *Melissa* (Lawrence, 1992).

Alguns gêneros desta família apresentam espécies nativas no Brasil, com potencial para exploração como plantas aromáticas e medicinais, visando a extração de óleos essenciais, como é o caso do gênero *Cunila*.

1.3. O gênero *Cunila* Royen ex L.

O gênero *Cunila* pertence à família Lamiaceae, tribo Mentheae, e é originário da América, sendo composto por 22 espécies que apresentam dois centros de distribuição. Um destes centros fica no México, com 10 espécies, e outro, no sul da América do Sul, com doze espécies, ocorrendo principalmente no sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai (Bordignon, 1997; Echeverrigaray et al., 2003).

As espécies do gênero *Cunila* são utilizadas na medicina popular como estimulantes, aromáticas, antiespasmódicas, emenagogas, antifebris, contra tosses crônicas e infecções respiratórias (Simões et al., 1994).

Uma grande variabilidade na composição química do óleo essencial é encontrada nas diferentes espécies de *Cunila*. Por exemplo, em *Cunila platyphylla* o principal constituinte encontrado é a pulegona com a concentração de 71,2 % (Bordignon et al., 1998a) e em *C. microcephala* e *C. fasciculata* foi encontrado o mentofurano com a concentração variando em torno de 82,3 a 85,1% e 71,6 a 76,4% respectivamente, e, em menores concentrações, o limoneno e o beta-cariofileno (Bordignon, et al., 1997). O mentofurano é um monoterpenóide presente também no óleo essencial de outros gêneros pertencentes à família Lamiaceae, como nas espécies *Mentha x piperita* e *Mentha pulegium*. Este composto apresenta atividade hepatotóxica, sendo indesejável em altas concentrações, do ponto de vista toxicológico (Madyastha & Raj, 1994; Bertea et al., 2001).

Segundo Bordignon et al. (1998b; 1999), os principais constituintes de *C. menthoides* são isomentona (88,8%) e mentona (4,7%) e em *C. angustifolia* encontra-se sabineno (41,4%), gama-terpineno (11,3%) e limoneno (9,5%) na população A (Bom Jardim da Serra-SC) e oxido de trans-piperitona (42,4%) na população B (Lages-SC). Em *C. incisa* o constituinte majoritário encontrado em duas populações do Rio Grande do Sul foi o 1,8 cineol, com uma concentração variando entre 50 e 60 % (Bordignon et al., 1996).

Estudos realizados com *Cunila galioides* coletada em diversas localidades do Rio Grande do Sul e Santa Catarina demonstram a existência de três quimiotipos nesta espécie: o quimiotipo citral, caracterizado por apresentar altas concentrações de neral e geranial (28,0% e 40,5 %, respectivamente); o quimiotipo ocimeno com altas concentrações de trans- β -ocimeno (33,05%) e o quimiotipo menteno apresentando 1,8 cineol (10,69%), trans- ρ -2,8-mentadieno-1-ol (11,46%), 1,3,8-mentatrieno (10,39%) e 1,5,8- ρ -mentatrieno (7,75%) (Fracaro et al., 2002; Echeverrigaray et al., 2003).

Os dados apresentados demonstram uma grande gama de compostos presentes no óleo essencial das espécies deste gênero e seu potencial de utilização como plantas aromáticas e medicinais, onde pode-se destacar a espécie *Cunila galioides* Benth.

1.4. A espécie *Cunila galioides* Benth.

A espécie *C. galioides*, conhecida popularmente como poejo ou poejo do campo, é uma planta nativa do Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai. É encontrada

em nosso país vegetando espontaneamente em ambientes úmidos dos campos de altitude e Encosta da Serra do Nordeste do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Botanicamente é descrita como uma planta herbácea ou subarborescente, perene, muito ramificada desde a base, com ramos quadrangulares. As folhas são opostas, simples, inteiras, oblongas, medindo de 0,2 a 0,4 cm de comprimento e 0,15 a 0,20 cm de largura, curto pecioladas ou sésseis e pilosas. As flores são de coloração violácea e dispostas em espigas, em verticilos densos na região terminal dos ramos. Esta planta floresce no período de outono, entre março e abril (Fracaro, 2001).



FIGURA 3. Planta de poejo (*Cynila galioides* Benth.) na fase de floração em local de ocorrência natural. São Francisco de Paula - RS, abril de 2004.

Esta espécie muitas vezes é confundida com *Mentha pulegium* L. (planta de origem européia), devido ao fato de compartilharem o mesmo nome popular e algumas semelhanças quanto ao porte e a coloração das flores. Entretanto, são

facilmente diferenciadas já que a *Mentha pulegium* apresenta folhas com margem serrada e flores dispostas em glomérulos axilares (Simões et al., 1998).

A propagação de poejo (*C. galioides*) pode ser realizada por sementes, estacas ou micropropagação. Observações preliminares indicam que as sementes do poejo apresentam baixo poder germinativo e baixa viabilidade. A propagação por estacas é possível, porém são necessários estudos referentes à otimização do processo. Fracaro & Echeverrigaray (2001) desenvolveram um protocolo de micropropagação de poejo, garantido, assim, uma alternativa de propagação clonal para as populações selecionadas.

Os locais onde esta planta normalmente é encontrada vegetando no Rio Grande do Sul são descritos como campos nativos de altitude (800 a 1.400 m), apresentando temperaturas médias anuais variando entre 15 e 16° C, precipitação pluviométrica anual em torno de 1.500 a 1.600 mm e solos ácidos.

Estes solos, com faixas de pH normalmente entre 4,5 a 5,5 caracterizam-se por apresentarem altos teores de alumínio trocável tóxico e, conseqüentemente, excesso de manganês e ferro que podem ser tóxicos para muitas culturas, embora algumas plantas sejam beneficiadas. Alguns trabalhos de pesquisa sobre a fitotoxidez de alumínio mostram que este fixa o fósforo em formas menos solúveis e pode interferir na absorção, transporte e utilização de vários nutrientes como Ca, Mg, K e, ainda, na água utilizada pelas plantas (Velooso et al., 2000).

Estudos realizados com nove populações e três quimiotipos de *C. galioides*, cultivadas em parcelas experimentais, indicam diferenças entre a produção de biomassa e conteúdo de óleos essenciais entre as diferentes populações (Pauletti et al., 2003).

Estudos genéticos baseados em marcadores de RAPD com 20 populações e três quimiotipos de poejo demonstram alto nível de diversidade genética nesta espécie, onde as populações do quimiotipo citral e menteno são mais próximas geneticamente em relação ao quimiotipo ocimeno. A diversidade genética e a presença de quimiotipos podem estar relacionadas com a localização geográfica das populações, onde, o quimiotipo citral é encontrado no Planalto Nordeste do Rio Grande do Sul, o quimiotipo ocimeno nos Campos de Cima da Serra e o quimiotipo menteno em uma área de transição entre estas duas regiões (Echeverrigaray et al., 2003; Fracaro et al., 2005).

Neste sentido, diferentes condições ambientais, tais como o clima e o tipo de solo de cultivo, podem influenciar a produção de óleos essenciais de diversas espécies vegetais.

1.5. Fatores que afetam a produção de plantas aromáticas e medicinais

As plantas aromáticas e medicinais podem ser influenciadas tanto na produção de biomassa quanto na produção de metabólitos secundários por diversos fatores. Entre estes fatores, pode-se destacar os genéticos, intrínsecos a cada espécie vegetal, modificações ambientais (edafológicas e climáticas), estresses biológicos em decorrência do ataque de fitopatógenos, bem como o estado fenológico da planta no momento da colheita e as práticas culturais adotadas na produção.

Endt et al. (2002) relatam que o controle da transcrição de genes biossintéticos parece ser o maior mecanismo de produção de metabólitos secundários em plantas. Estes genes controlam a rota biossintética por meio de específicos fatores de transcrição que são dependentes de sinais internos, por exemplo, hormônios, e

sinais externos como a ação de microrganismos elicitores ou luz ultravioleta, podendo estes induzir a produção dos sinais internos.

Segundo Hay & Waterman (1993), as diferenças qualitativas encontradas nos óleos essenciais são fundamentalmente de base genética, enquanto que as variações quantitativas podem ser atribuídas tanto as variações ambientais quanto aos fatores genéticos (Grella & Picci, 1988).

Alguns experimentos realizados com *Mentha piperita* (Lamiaceae) demonstraram que o acúmulo de mentofurano, um componente comum no óleo essencial de várias espécies deste gênero, é altamente dependente das condições ambientais, sendo produzido em maiores concentrações em condições de altas temperaturas diurnas e noturnas, baixa intensidade luminosa, dias curtos, estresse hídrico e quando cultivada em altas altitudes (Sacco, 1978; Rech, 2000; Bertea et al., 2001).

Estudando aspectos relacionados à localização geográfica, variação genética e morfológica de diferentes populações de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) com relação à produção de óleos essenciais, Lee et al. (2002) encontraram diferenças na composição do óleo essencial entre populações que apresentavam baixa diversidade genética, indicando ação ambiental na produção de quimiotipos. Estes autores indicam, ainda, que a utilização do óleo essencial (variação terpênica) como meio de caracterização genética de populações pode ser questionável, principalmente em populações de diferentes localidades.

No mesmo sentido, Loziene & Venskutonis (2005) cultivando *Thymus pulegioides*, no mesmo ambiente, por cinco anos consecutivos, distinguiram dois tipos de comportamento entre os quimiotipos avaliados: 1. plantas que preservam a

composição química do óleo essencial; 2. plantas que modificam consideravelmente sua composição química de acordo com as condições ambientais de cultivo.

Com relação ao efeito de parâmetros agronômicos na produção de plantas aromáticas e medicinais, alguns trabalhos têm sido desenvolvidos com relação ao nível de irrigação aplicado, teor e tipo de nutrientes utilizados, época de colheita, entre outros. Por exemplo, Ram et al. (2002) observaram um incremento na produção de óleo essencial e biomassa de *Pelargonium graveolens* (gerânio) utilizando adubação nitrogenada e mulching orgânico. Entretanto, não houve diferença na composição química dos compostos majoritários do óleo essencial entre os tratamentos.

Emongor & Chweya (1992) constataram diferenças qualitativas no óleo essencial de *Chamomilla recuntita* (camomila alemã) com a utilização de adubação química nitrogenada, onde ocorreu um incremento no conteúdo de α -bisabolol e camazuleno e um decréscimo no conteúdo de óxido-bisabolol A e B.

Por outro lado, Castellanos & Villa Lobos (2003) não observaram diferenças significativas no rendimento de óleo essencial de *Chrysanthemum coronarium* (Asteraceae) com a aplicação de fertilizantes. Entretanto, observaram incrementos no teor dos compostos majoritários cânfora e pineno.

Com relação à densidade de plantio, Hassanali et al. (2004), trabalhando com *Thymus vulgaris* (tomilho), observaram que maiores densidades incrementam a produção de óleo por área sem alterar o teor de óleo essencial. Os mesmos autores constataram que realizando a colheita antes da floração ocorre um incremento significativo no teor de óleo essencial e no conteúdo de timol.

Neste contexto, estudos referentes aos fatores que podem influenciar a produção de plantas aromáticas e medicinais, principalmente de espécies nativas com potencial de utilização comercial e ainda pouco estudadas, são de extrema relevância.

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, E. L. Produção de plantas medicinais para programas de fitoterapia em saúde pública no Brasil. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 569, p.17-20, 2002.

BANDONI, A. **Los recursos vegetales aromaticos en Latinoamérica:** su aprovechamiento industrial para la producción de aromas e sabores. 2ª ed. Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata, 2002, 410 p.

BERTEA, C. M.; SCHALK, M.; KARP, F.; MAFFEI, M.; CROTEAU, R. Demonstration that menthofuran synthase of mint (*Mentha*) is a cytochrome P450 monooxygenase: cloning, of the responsible gene. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v. 39, n. 2, p. 279-286, 2001.

BORDIGNON, S. A. L.; SCHENKEL, E. P.; SPIZLER, V. The essential oil of *Cunila incisa* (Lamiaceae) – A rich source of 1.8-cineole. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 2, p.105-107, 1996.

BORDIGNON, S. A. L. **Estudo botânico e químico de espécies de *Cunila Royen ex L. (Lamiaceae)* nativas do sul do Brasil.** Porto Alegre: UFRGS, 1997. 197 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

BORDIGNON, S. A. L.; SCHENKEL, E. P.; SPIZLER, V. The essential oil of *Cunila microcephala* e *Cunila faciculata*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 44, n. 7, p. 1283-1286, 1997.

BORDIGNON, S. A. L.; SCHENKEL, E. P.; SPIZLER, V. The essential oil composition of *Cunila platyphylla* Epling (Lamiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, La Plata, v.17, p. 143-146, 1998 a.

BORDIGNON, S. A. L.; SCHENKEL, E. P.; SPIZLER, V. Essential oil of *Cunila menthoides* Bentham (Lamiaceae). **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 10, p. 317-320, 1998 b.

BORDIGNON, S. A. L.; SCHENKEL, E. P.; SPIZLER, V. The essential oil composition of *Cunila angustifolia* (Lamiaceae). **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v.11, p. 145-148, 1999.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia.** Zaragoza: Acribia, 1991, 594 p.

CASTELLANOS, P. P. A.; VILLALOBOS, M. J. P. Effect of fertilizer on yield composition of flowerhead essential oil of *Chrysanthemum coronarium* (Asteraceae) cultivated in Spain. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.17, p. 77-81, 2003.

CORRÊA JÚNIOR, C.; GRAÇA, C.; SHEFFER, M. C. Produção de plantas medicinais para programas de fitoterapia em rede de saúde pública: a experiência de Curitiba - PR. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 569, p. 55-59, 2002.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994, 1032 p.

CRAGG, G. M.; BOYD, M. R.; GREVER, M. R.; SCHEPARTZ, S. A. Pharmaceutical prospecting and the potential for pharmaceutical crops. Natural product drug discovery and development at the United States National Cancer Institute. **Annual Missouri Botanic Garden**, Sant Louis, v. 82, p. 47-53, 1995.

DUKE, J. A. **Biologically**: Active compounds important spices, herbs and edible fungi. Amsterdam: George Charalembours, 1994, 595 p.

ECHEVERRIGARAY, S.; FRACARO, F.; SANTOS, A.C.; PAROUL, N.; WASUM, R.; SERAFINI, L.A. Essential oil composition of South Brazilian populations of *Cunila galioides* Benth. and its relation with the geographic distribution. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 31, p. 467-475, 2003.

EISENREICH, W.; SAGNER, S.; ZENK, M. H.; BACHER, A. Monoterpenoid essential oils are not of mevalonoid origem. **Tetrahedron Letters**, Oxord, v. 38, n. 22, p. 3889-3892, 1997.

EMONGOR, V. E.; CHWEYA, J. A. Effects of nitrogen and variety on essential oil yield and composition from chamomile flowers. **Tropical Agriculture**, St. Augustini, v. 69, n. 3, p. 290-292, 1992.

ENDT, D. V.; KIJNE, J. W.; MEMELINK, J. Transcription factors controlling plant secondary metabolism: what regulates the regulators? **Phytochemistry**, Oxford, v.61, n. 2, p. 107-114, 2002.

FARNSWORTH, N. R. Ethnopharmacology and drug development. *In*: Ethnobotany and the search for new drugs. Chichester: Ciba Foudation Symposium Wiley, 1994, p. 42-51.

FRACARO, F. **Micropropagação e estudo da variabilidade química e genética em poejo (*Cunila galioides* Benth)**. Caxias do Sul: UCS, 2001. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2001.

FRACARO, F.; ECHEVERRIGARAY, S. Micropropagation of *Cunila galioides*, a popular medicinal plant of south Brazil. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 64, p. 1-4, 2001.

FRACARO, F.; SERAFINI, L. A.; SANTOS, A.C.A.; PAROUL, N.; ECHEVERRIGARAY, S. Analysis of the Essential Oil Composition of *Cunila galioides* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 14, p. 336-338, 2002.

FRACARO, F.; ZACARIA, J.; ECHEVERRIGARAY, S. RAPD based genetic relationships between populations of three chemotypes of *Cunila galioides* Benth. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, p. 409-417, 2005.

Grella, G. E.; Picci, V. Variazione estagionali dell olio essenziale di *Salvia officinalis*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 97-102, 1988.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2001, 833 p.

HARBORNE, J. B. Plant secondary metabolism. In: CRAWLEY, M. J (ed.). **Plant Ecology**. Oxford: Blackwell Science, 1997, 717 p.

HASSANALI, N. B.; DARAB, M. A.; FATEMEH, N. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 19, p. 231-236, 2004.

HAY , R. K. M.; WATERMAN, P. G. **Volatil oil crops: their biology, biochemistry and production**. Harlow: Longman Scientific & Technical, 1993, 620 p.

ISMAN, M. Pesticides based on plant essential oil. **Pesticides Outlook**, Essex, p. 68-72, 1999.

LANGE, B.M.; WILDUNG, M.R.; McCASKILL, D.; CROTEAU, R. A family of transketolases that directs isoprenoid biosynthesis via a mevalonate-independent pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, washington, v. 95, p. 2100-2104, 1998.

LAWRENCE, B. M. Chemical components of Labiate oils and their exploitation. In: HARLEY, R. M.; REYNOLDS, T. (ed). **Advances in Labiate science**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992, p. 399-436.

LAWRENCE, B. M. The isolation of aromatic materials from natural plant products. In: SILVA, K. T. **A manual on the essential oil industry**. Vienna: Unido, 1995, p. 57-154.

LEE, L. S.; BROOKS, L. O.; HOMER, L. E.; ROSSETTO, M.; HERY, R. J.; BAVERSTOCK, P. R. Geographic variation in the essential oils and morphology of natural populations of *Melaleuca alternifolia* (Mirtaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 30, p. 343-360, 2002.

LOZIENE, K.; VENSKUTONIS, P. R. Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, p. 517-525, 2005.

McCASKILL, D.; CROTEAU, R. Monoterpene and sesquiterpene biosynthesis in glandular trichomes of peppermint (*Mentha x piperita*) rely exclusively on plastid-derived isopentenyl diphosphate. **Planta**, Heidelberg, v. 197, p. 49-56, 1995.

MADYASTHA, K. M.; RAJ, C. P. Effects of menthofuran, a monoterpene furan on rat liver microsomal enzymes, in vivo. **Toxicology**, Shannon, v. 89, n. 2, p. 119-125, 1994.

PAULETTI, G. F.; BARROS, I. B. I.; ECHEVERRIGARAY, S.; SERAFINI, L. A.; ROTA, L. D.; SANTOS, A. C. Análise quantitativa da produção de óleos essenciais de *Cunila galioides* Benth. (poejo) cultivada no Rio Grande do Sul. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, suplemento 1, p. 408, 2003.

PRANCE, G. T. What is ethnobotany today? **Journal of Ethnopharmacology**, Shannon, v. 32, p. 209-216, 1991.

RAM, M.; RAM, D.; ROY, S. K. Influence of an organic mulching on fertilizer nitrogen use efficiency and herb and essential oil yield in geranium (*Pelargonium graveolens*). **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 87, n. 3, p. 273-278, 2003.

RECH, J. C.; FRIZZO, C. D.; SERAFINI, L. A.; MOYNA, P.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Composição química do óleo essencial de menta (Italo Mitcham) cultivada no Sul do Brasil e Uruguai. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 1008-1009, 2000.

RHODES, M. J. C. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. **Plant Molecular Biology**, Dodrecht, v. 24, p. 1-20, 1994.

SACCO, T. Ricerche sul comportamento della *Mentha piperita* Huds "Italo Mitcham" in Rio Grande do Sul, Brasile. **Rivista Italiana Essenze Profumi Piante Officinali Aromi Saponi**, Milano, p. 7-11, 1978.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólicos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: URS/ UFSC, 2001, p. 323-354.

- SILVA, K. T. **A manual on the essential oil industry**. Viena: Unido, 1995, 232 p.
- SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul**. 5ª ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998, 173 p.
- SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2001, 833 p.
- SOEJARDO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit- sharing: perspectives from de field. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 51, p. 1-15, 1996.
- VELOSO, C. A. C.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T.; CARVALHO, E. J. M. Alumínio e absorção de cálcio por mudas de pimenta do reino. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 141-145, 2000.
- VIEIRA, R. F. Conservação de recursos genéticos de plantas aromáticas e medicinais brasileiras: um desafio para o futuro. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 569, p. 61-68, 2002.
- WINK, M. Evolution of secondary metabolites from na ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, Oxford, v. 64, p. 3-19, 2003.
- WEST, C. Terpene biosynthesis and metabolism. In: DENNIS, D.T. & TURPIN, D.H. **Plant physiology, Biochemistry an Molecular Biology**. Essex: Longman, 1992, 529 p.
- ZHANG, X. **Diretrizes de la Organización Mundial de la Salud para buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales**. Genebra: OMS, 2003, 79 p.

CAPÍTULO II

Propagação de poejo (*Cunila galioides* Benth.): uma espécie aromática e medicinal nativa do sul do Brasil.

RESUMO

Cunila galioides é uma planta aromática e medicinal nativa do sul do Brasil e muito utilizada na medicina tradicional. O óleo essencial, de um dos seus quimiotipos, contém altas concentrações de citral, um monoterpene utilizado na perfumaria, cosmética e como aromatizante de alimentos. As sementes desta espécie apresentam uma baixa taxa de germinação e existem poucos estudos referentes à sua propagação vegetativa. Neste sentido, objetivou-se avaliar distintas doses de AIB (0, 250, 500 e 1000 mg·L⁻¹) no enraizamento de estacas herbáceas de poejo e diferentes métodos para superar uma possível dormência das sementes (AG₃, KNO₃ e baixa temperatura). Os tratamentos mais efetivos para incrementar a porcentagem de germinação foram KNO₃ e GA₃ com 57,75% e 54,50%, respectivamente. O tratamento utilizando baixa temperatura não mostrou uma resposta efetiva sobre a germinação das sementes. Na propagação vegetativa o uso de AIB apresentou pouco efeito, não sendo necessário sua utilização.

Palavras-chave: Óleo essencial, estaquia, germinação, ácido giberélico, nitrato de potássio, ácido indol butírico.

ABSTRACT

Propagation of *Cunila galioides* Benth.: an aromatic and medicinal plant native of south Brazil.

Cunila galioides is an native aromatic and medicinal plant used in traditional medicine. The essential oil of one chemotype of this species is rich in citral, a monoterpene used widely in foods, cosmetics and perfumery. Seed propagation of this species shows a low percentage of seed germination and vegetative propagation is poorly studied. The objective of this study was to evaluate different procedures to overcome seed dormancy (GA₃ -gibberellic acid; KNO₃ - potassium nitrate; low temperature) and diferents doses of IBA (0, 250, 500, 1000 mg·L⁻¹) in cutting propagation. The most effective treatments to increase the percentage of germination were KNO₃ and GA₃ with 57.75 % and 54.50 %, respectively. Seeds submitted to the

stratification treatment did not show an effective response on seed germination. In vegetative propagation IBA concentrations showed low effect.

Key words: *Cunila galioides*, seed germination, gibberelic acid, potassium nitrate, indolbutyric acid

2.1. INTRODUÇÃO

A espécie *Cunila galioides*, conhecida popularmente como poejo, é encontrada vegetando espontaneamente em ambientes úmidos da Encosta Superior da Serra do Nordeste do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (Bordignon, 1997). Espécies deste gênero são utilizadas na medicina popular como estimulantes, aromáticas, antiespasmódicas, emenagogas, antifebris, contra tosses crônicas e infecções respiratórias (Simões et al., 1998).

De acordo com Fracaro et al. (2002), com relação ao óleo essencial, *C. galioides* apresenta três quimiotipos (QT), sendo que um deles contém alta concentração de citral (>70%). O citral é uma mistura de dois isômeros, neral e geranial, muito utilizado na composição de condimentos, devido ao seu aroma cítrico, bem como na perfumaria e cosmética. Também é utilizado na síntese de β -ionona como um intermediário da síntese de vitamina A (Bauer, et al., 2001; Sadraei et al., 2003).

A propagação de poejo pode ser realizada de forma sexuada ou assexuada (Fracaro & Echeverrigaray, 2001). Em seu habitat natural sua forma de propagação é sexuada, com a floração da espécie ocorrendo entre os meses de março e abril.

Segundo Nadeem (2000), o estudo da propagação é a primeira estratégia de ação visando salvaguardar espécies medicinais nativas que, pelo interesse de utilização, são coletadas indiscriminadamente elevando os riscos de extinção.

Em espécies produtoras de óleos essenciais, principalmente em espécies nativas, devido a grande variabilidade química dos diversos quimiotipos, ecotipos e populações existentes, a propagação vegetativa apresenta grande importância. Além disto, associada à seleção clonal, oferece um rápido ganho genético para programas de melhoramento (Mesén et al., 1997).

A estaquia é um método de propagação vegetativa, comumente utilizada para a produção de mudas em diversas espécies, sendo uma das tecnologias mais econômicas na propagação em larga escala (Fernandes et al., 2004). O sucesso no enraizamento de estacas depende de uma interação entre fatores internos, intrínsecos às espécies vegetais (fitohormônios, estoque de reservas, balanço hormonal entre inibidores, promotores e cofatores) e externos (condições ambientais) (Trobec et al., 2005).

Algumas espécies enraizam sem a necessidade de tratamentos com reguladores de crescimento, enquanto outras se beneficiam com a aplicação exógena destes, aumentando a produção de raízes, sendo este benefício dependente da espécie e cultivar, condições e tipo de estaca, época do ano, entre outros (Hartmann et al., 2002). Segundo Fachinello et al. (1995) para cada espécie vegetal são necessários testes, visando determinar a melhor substância promotora do enraizamento, bem como a sua necessidade e as concentrações mais adequadas.

O grupo de reguladores de crescimento sintético mais utilizado na indução de enraizamento é o das auxinas, principalmente o AIB (ácido indolbutírico) (Fachinello et al., 1995; Norberto et al., 2001).

A propagação sexuada apresenta vantagens para a domesticação e o melhoramento de espécies vegetais, pois favorece a geração de novos arranjos gênicos pela formação de híbridos e segregantes, aumentando a variabilidade genética disponível (Nadeem, 2000).

Embora o poejo produza um grande número de sementes, observações preliminares indicam baixa viabilidade e poder germinativo, ou dormência. A dormência é conceituada como a falha de uma semente intacta, em condições favoráveis, completar a germinação (Bewley, 1997). Para as espécies vegetais a dormência é uma estratégia adaptativa de sobrevivência em ambientes hostis, sendo controlada por um grande número de genes e fatores ambientais (Koornneef et al., 2002). Comercialmente pode ser considerado um mecanismo indesejável, embora, em alguns casos, um certo grau de dormência seja vantajoso evitando a germinação precoce (Gubler, 2005).

Para superar estes problemas alguns trabalhos têm sido conduzidos com distintas espécies, testando diferentes métodos para superar a dormência. Estes métodos visam avaliar a qualidade de sementes, seja por objetivos comerciais, no estabelecimento de uma cultura ou conservação de germoplasma (Faron et al., 2004). Neste sentido, vários autores ressaltam o papel das giberelinas na germinação, estando envolvidas tanto na quebra de dormência quanto na rapidez da germinação de sementes não dormentes, atuando na síntese de RNA e proteínas específicas da germinação e no controle de enzimas hidrolíticas, induzindo a

produção de α -amilase, responsável pela hidrólise do amido, da qual depende o embrião em crescimento (Ynoue et al., 1999; Martins & Silva, 2001; Stenzel et al., 2003). O ácido giberélico, considerado ativador enzimático endógeno, e a aplicação exógena deste promotor influenciam o metabolismo protéico, podendo dobrar a taxa de síntese de proteínas das sementes, atuando ainda, na maioria das espécies, no alongamento celular (Aragão et al., 2003).

O nitrato de potássio está incluído no grupo de produtos químicos que promovem a germinação de várias espécies. Entretanto, sua forma de ação é bastante discutida. Acredita-se que em contato com as substâncias existentes no pericarpo, ocorram maiores trocas gasosas e, conseqüentemente, a germinação (Leonel & Rodrigues, 1999; Lula et al., 2000; Faron et al., 2004).

Muitas sementes podem apresentar dormência necessitando da exposição a uma temperatura crítica, normalmente baixa, antes de serem capazes de germinar, o que leva a mudanças fisiológicas e metabólicas. Esta temperatura não está relacionada com a temperatura ótima para germinação e este tipo de dormência é comum em muitas espécies de clima temperado (Ayoyama et al., 1996).

Recentes estudos têm demonstrado que a quebra de dormência em sementes, por diversos mecanismos, está relacionada com o rápido declínio no conteúdo de ácido abscísico (ABA), ocorrendo à síntese, no caso de sementes dormentes, e o catabolismo no processo de quebra de dormência (Gubler et al., 2005).

Neste sentido objetivou-se avaliar o poder germinativo das sementes de poejo, utilizando-se tratamentos para superar uma possível dormência, bem como levantar

subsídios à propagação vegetativa avaliando o efeito do ácido indolbutírico na propagação por estaquia.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Sementes do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia e na casa-de-vegetação do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram utilizadas estacas coletadas em março de 2003 e sementes coletadas em maio de 2004 retiradas de plantas matrizes da população André da Rocha (QT Citral), cultivadas no Banco Ativo de Germoplasma de Espécies Aromáticas e Medicinais do Laboratório de Óleos Essenciais do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, mantidas em casa de vegetação.

Experimento 1: Estacas apicais com 10 cm de comprimento, com 1/3 da parte basal desfolhada, tiveram dois centímetros inferiores imersos, por uma hora, em solução aquosa com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). O experimento foi conduzido em delineamento experimental completamente casualizado com 4 tratamentos, 12 estacas por parcela e 4 repetições. Os tratamentos utilizados foram: 0 mg · L⁻¹ de AIB; T2 – 250 mg · L⁻¹ de AIB; T3- 500 mg · L⁻¹ de AIB e T4- 1000 mg · L⁻¹ de AIB.

Como substrato foi utilizado casca de arroz carbonizada, a qual foi acondicionada em bandejas plásticas, com dimensões de 55,0 X 35,5 cm e 10 cm de altura contendo orifícios de drenagem na parte inferior (Apêndice II). As estacas

foram mantidas sob nebulização intermitente (dois minutos de irrigação a cada 30 minutos), por 45 dias, sendo avaliadas após este período.

Os parâmetros avaliados foram: número de raízes por estaca, incremento aéreo: $(\text{comprimento final} / \text{comprimento inicial}) \cdot 100$; matéria seca da parte aérea; matéria seca radicular e avaliação qualitativa do desenvolvimento radicular das estacas, através de uma escala de notas previamente determinada: 1 = raiz pequena e até 15 raízes por estaca; 3 = estaca com bom desenvolvimento radicular e 16 a 24 raízes por estaca ; 5 = sistema radicular longo e bem desenvolvido com mais de 25 raízes por estaca.

Experimento 2: No experimento de propagação sexuada, após a colheita das sementes, estas foram colocadas para secar, em uma peneira, sob papel filtro à temperatura ambiente, em condições de laboratório, por um período de 15 dias. Para a realização do experimento foi utilizado um germinador com temperatura constante de 20°C e fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. As sementes foram colocadas para germinar em caixas tipo gerbox (11,5 cm x 11,5 cm x 3,5 cm), sobre papel mata borrão (Apêndice III).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, contendo 100 sementes por parcela com quatro repetições e quatro tratamentos. Os tratamentos utilizados para superação da dormência, foram: T1 – controle (sementes armazenadas em frasco de vidro hermético a temperatura ambiente); T2- aplicação de ácido giberélico (AG_3) na concentração de 250 ppm; T3 – aplicação de nitrato de potássio (KNO_3) na concentração de 0,1%; e T4- Aplicação prévia de frio (5 °C por 7 dias) (BRASIL, 1992) . Para os tratamentos T2 e T3 a aplicação de AG_3 ou KNO_3 foi realizada na primeira irrigação das sementes. No tratamento com baixa temperatura

(T4) e controle (T1) a primeira irrigação foi realizada com água destilada. O volume inicial de irrigação foi de 6,5 mL, o que corresponde a três vezes o peso do papel (Alves. et al., 2004). Para a manutenção da umidade, as caixas gerbox foram umedecidas diariamente com água destilada, conforme a necessidade.

O período do experimento foi de 21 dias sendo o efeito dos tratamentos determinado pelas variáveis percentagem de sementes germinadas, $\%G = (\sum n_i \cdot N^{-1}) \cdot 100$, onde n = número total de sementes germinadas e N = número de sementes dispostas para germinar, e índice de velocidade de germinação, $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + G_3/N_3$, onde G_1, G_2, G_3 = número de sementes germinadas, N_1, N_2, N_3 = número de dias após a semeadura, avaliados a cada 7 dias (Ferreira & Borghetti, 2004).

Os resultados de ambos os experimentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Os dados de porcentagem de germinação foram transformados para arcoseno da raiz quadrada de $x/100$. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 1 e 5 % de probabilidade.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1: O percentual de estacas enraizadas foi bastante elevado, superior a 95 %, em todos os tratamentos, indicando que a população de *Cunila galioides* utilizada no estudo é de fácil enraizamento. As estacas foram coletadas na porção apical de plantas matrizes jovens em pleno estado vegetativo e bastante herbáceas, o que segundo Trobec et al. (2005) apresentam maior capacidade de

enraizamento. Deve ser considerado também, que a presença de folhas jovens na estaca são responsáveis pela produção de auxinas encontradas naturalmente na planta aumentando, assim, a disponibilidade de auxina endógena (Fachinello et al., 1995).

A Tabela 1 mostra os valores médios dos parâmetros avaliados após 45 dias do início do experimento. Pode-se observar uma resposta distinta de acordo com o parâmetro avaliado e a concentração de AIB aplicada à estaca. Com relação ao número de raízes e a matéria seca radicial não se observou diferença estatística entre os tratamentos. Um parâmetro importante na avaliação é a escala de notas que fornece uma informação qualitativa da massa radicial envolvendo vários fatores no crescimento da raiz (Pardo & Barros, 1997). Neste parâmetro o tratamento com aplicação de $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de AIB mostrou-se superior aos demais.

TABELA 1. Valores médios para os diferentes parâmetros de produção avaliados em plantas de poejo submetidas ao enraizamento com diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA).

AIB ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	N° Raiz	Nota	PMSR (mg)	IA (%)
0	19,10 a	2,22 b	82 a	122 a
250	21,50 a	2,95 a	75 a	118 a
500	21,20 a	2,23 b	80 a	90 ab
1000	17,10 a	1,88 b	50 a	40 b
CV %	11,58	18,48	22,0	17,70

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

AIB – ácido indol butírico; N° Raiz – número de raízes; MSR – matéria seca radicial; MSA – matéria seca aérea; IA – incremento aéreo;

Para o incremento aéreo (IA) os tratamentos com $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de IBA e $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de IBA foram superiores ao tratamento $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de IBA. O tratamento $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de IBA apresentou valores intermediários.

Observa-se uma queda linear na produção de matéria seca da parte aérea das plantas com o aumento na concentração de AIB aplicado à estaca, sendo mais acentuada a partir da concentração de $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Este fato evidencia um efeito fitotóxico do AIB, possivelmente devido ao tempo de exposição da estaca à auxina (1 hora), que pode ser muito elevado para as maiores concentrações (Fachinello et al., 1995) (Figura 1).

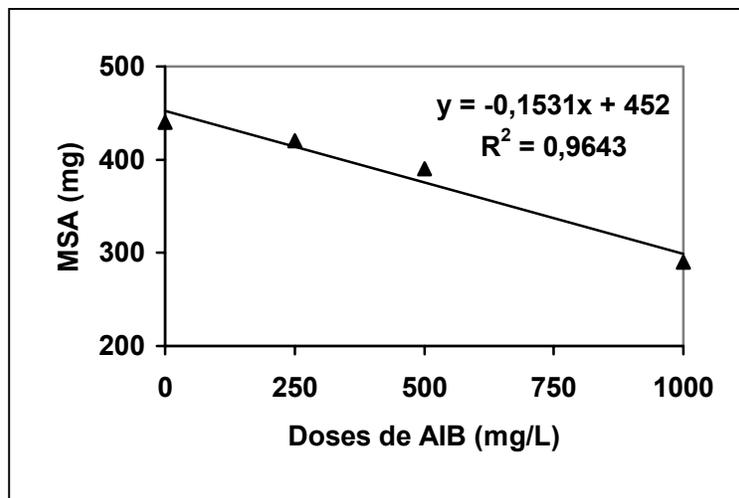


FIGURA 1. Matéria seca da parte aérea (MSA) de estacas de poejo tratadas com doses de ácido indolbutírico (AIB) 45 dias após a estaquia.

Embora não evidentes, as diferenças entre os tratamentos para os parâmetros número de raízes e matéria seca radicular e entre as dosagens zero, 250 e $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para incremento aéreo, pode-se dizer que a aplicação de $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de AIB em estacas de poejo promove um melhor enraizamento, por apresentar uma maior nota radicular que é um parâmetro qualitativo importante (Tabela 1). No entanto, os dados

permitem afirmar que o poejo pode ser propagado por estaquia sem nenhum tratamento auxiliar com auxinas exógenas, o que é importante do ponto de vista prático e econômico na produção de mudas em larga escala.

Experimento 2: Com relação à germinação de sementes, os resultados obtidos revelam a ação favorável do fitorregulador do grupo das giberelinas (AG_3), bem como do nitrato de potássio (KNO_3) no processo de germinação de sementes de poejo. O tratamento utilizando frio a uma temperatura de $5^\circ C$ por uma semana não foi eficiente, resultando numa taxa de germinação semelhante a da testemunha (Figura 2 A). A ineficiência deste tratamento pode estar associada a falta de umidade das sementes no momento da exposição ao frio. Segundo Zaidan & Barbedo (2004), para a quebra de dormência com baixas temperaturas, as sementes devem ser dispostas em camadas com substrato umedecido.

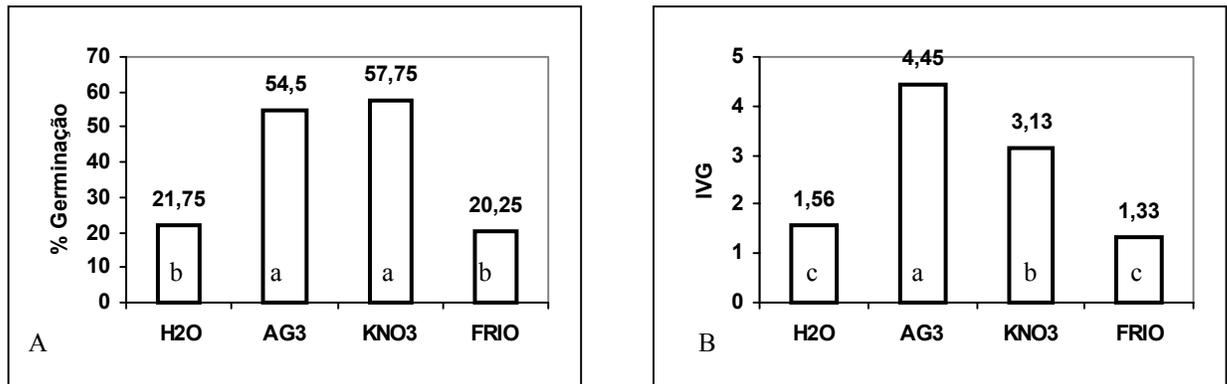


FIGURA 2. A - Porcentagem média de germinação (G%) e B - Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de poejo tratadas com distintos tratamentos para superar dormência. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %. (A – CV=30%; B – CV = 52%).

Ayoyama et al. (1996) encontraram resultados semelhantes trabalhando com lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller), uma espécie aromática da família Lamiaceae, onde a aplicação de AG_3 (100 ou 200 mg \cdot L⁻¹) foi eficiente e o resfriamento (7°C por 7 dias) não alterou a taxa de germinação das sementes.

De acordo com a avaliação realizada no final do experimento os maiores valores de porcentagem de germinação, referentes aos tratamentos com aplicação de AG_3 e KNO_3 , foram 54,50 e 57,75 % respectivamente, não ocorrendo diferença estatística entre eles (Figura 2A). Estes tratamentos foram significativamente superiores ao tratamento com resfriamento (20,25%) e a testemunha (21,75%).

Alguns trabalhos têm demonstrado o efeito positivo das giberelinas e de compostos químicos como o KNO_3 , para superar a dormência ou aumentar a taxa e a velocidade de germinação de algumas espécies (Peng & Harbert, 2002; Faron et al., 2004). No entanto, foram observadas diferenças entre os melhores tratamentos (AG_3 e KNO_3) de acordo com o período de avaliação (Figura 3).

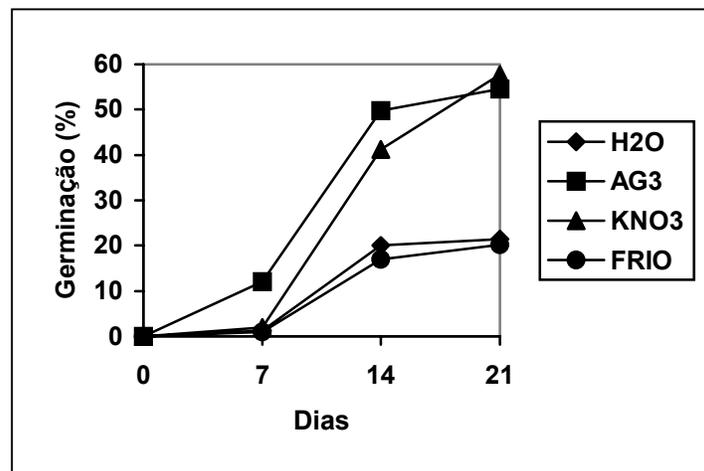


FIGURA 3. Taxa de Germinação (%) acumulada de sementes de poejo submetidas a diferentes tratamentos para superar dormência.

Nas primeiras avaliações, aos 7 e 14 dias, o tratamento utilizando AG₃ mostrou-se sempre superior aos demais tratamentos (Figura 3). Estes resultados confirmam um maior índice de velocidade de germinação (IVG) do AG₃, sendo estatisticamente superior, refletindo um maior vigor nas plântulas resultantes deste tratamento (Figura 2B). Neste sentido, vários autores citam que a aplicação de giberelinas aumenta a germinação de sementes proporcionando um maior vigor (Aragão et al., 2003; Stenzel et al., 2003).

2.4. CONCLUSÕES

- Estacas herbáceas, com dez centímetros de comprimento, podem ser empregadas para a propagação vegetativa de poejo, sem a necessidade de utilização de ácido indolbutírico;
- A germinação de sementes de poejo pode ser consideravelmente aumentada com o uso de 250 mg·L⁻¹ de ácido giberélico ou 0,1 % de nitrato de potássio.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M. C. S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R.; TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.39, n.11. p. 1083-1086, 2004.
- AOYAMA, E. M.; ONO, E. O.; FURLAN, M. R. Estudo da germinação de sementes de lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 53, n. 2-3, p. 267-272, 1996.
- ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B.; ALVES, E.; CATANEO, A. C.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n.1, p. 43-48, 2003.
- BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURB, H. **Common Fragrance and Flavor Materials. Preparation, Properties and Uses**. Holvminden: WILEY-VCH, 2001. 293 p.
- BEWLEY, J. D. Seed Germination and Dormancy. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, p. 1055-1066, 1997.
- BORDIGNON, S. A. L. **Estudo botânico e químico de espécies de *Cunila Royen ex L. (Lamiaceae)* nativas do sul do Brasil**. Porto Alegre: UFRGS, 1997. 197 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. **Regras para a análise de sementes**. Brasília: Departamento de Defesa Vegetal, 1992.
- FACHINELLO, J. C.; KERSTEN, E.; HOFFMANN, A.; NACHITIGAL, J. C.; LUCES FORTES, G. R. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1995, 179 p.
- FARON, M. L. B.; PERCIN, M. B.; LAGO, A. A.; BOVI, O. A.; MAIA, N. B. Temperatura, nitrato de potássio e fotoperíodo na germinação de sementes de *Hipericum perforatum* L. e *H. brasiliense* Choisy. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 2, p.193-199, 2004.

FERNANDES, A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; SILVA, D. J. H.; BARBOSA, J. G. Produção de mudas de tomateiro por meio de estacas enraizadas em hidroponia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 4, p. 343-348, 2004.

FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004, 323 p.

FRACARO, F.; ECHEVERRIGARAY, S. Micropropagation of *Cunila galioides*, a popular medicinal plant of south Brazil. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 64, p. 1-4, 2001.

FRACARO, F.; SERAFINI, L. A.; SANTOS, A. C.A.; PAROUL, N.; ECHEVERRIGARAY, S. Analysis of the essential oil composition of *Cunila galioides* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 14, p. 336-338, 2002.

GUBLER, F.; MILLAR, A. A.; JACOBSEN, J. V. Dormancy release, ABA and pre-harvest sprouting. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 8, n. 2, p. 183-187, 2005.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES Jr., F. T. **Plant propagation**: principles and practices. 5 ed. New Jersey: Pentice-Hall International, 1990, 647 p.

KOORNNEEF, M.; BENTSINK, L.; HILHORST, H. Seeds dormance and germination. *Current Opinion of Plant Biology*, London, v. 5, n. 1, p. 33-36, 2002.

LEONEL, S.; RODRIGUES, J. D. Efeitos de giberilinas, citocininas e do nitrato de potássio no processo germinativo de sementes de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 111-116, 1999.

LULA, A. A.; ALVARENGA, A. A.; ALMEIDA, L. P.; ALVES, J.D.; MAGALHÃES, M. M. Estudos de agentes químicos na quebra de dormência de sementes de *Paspalum paniculatum* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 358-366, 2000.

MARTINS, L.; SILVA, W. R. Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 7, p. 997-1003, 2001.

MESÉN, F.; NEWTON, A. C.; LEAKEY, R. R. B. Vegetative propagation of *Cordia alliodora* (Ruiz & Pavon) Oken: the effects of IBA concentration, propagation medium and cutting origin. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 92, p. 45-54, 1997.

NADEEM, M.; PALNI, L.M.S.; PUROHIT, A.N.; PANDEY, H.; NANDI, S.K. Propagation and Conservation of *Podophyllum hexandrum* Royle: an important medicinal herb. **Biological Conservation**, Amsterdam, v. 92, p. 121-129, 2000.

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

PARDO, V. A.; BARROS, I. B. I. Propagação vegetativa de marcela (*Achyrocline satureioides*) sob diferentes períodos de enraizamento e doses de ácido indol butírico. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 3, n. 1, p. 41-48, 1997.

PENG, J.; HARBERD, N. P. The role of GA-mediated signaling in the control of seed. **Current Opinion of Plant Biology**, London, v. 5, p. 376-381, 2002.

SADRAEI, H.; GHANNADI, A.; MALEKSHHI, K. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 74, p. 445-452, 2003.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul**. 5ª ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998, 173 p.

STENZEL, N. M. C.; MURATA, I. M.; NEVES, C. S. V.J. Superação da dormência em sementes de Atemóia e fruta-do-conde. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 305-308, 2003.

YNOUE, C. K.; ONO, E. O.; MARCHI, L. O. S. Efeito do GA₃ na germinação de sementes de kiwi (*Actinidia chinensis* Planch.). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 9-12, 1999.

TROBEC, M.; SATAMPAR, F.; VEBERIC, R.; OSTERC, G. Flutuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock 'GiSela 5' cuttings. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, n. 5, p. 589-597, 2005.

ZAIDAN, L. B. P.; BARBEDO, C. J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. (Orgs.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, p. 135-146.

CAPÍTULO III

Produção de biomassa e óleo essencial de poejo (*Cunila galioides* Benth.) frente a diferentes níveis de calagem.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da calagem na produção de biomassa e de óleo essencial de três quimiotipos de poejo (*Cunila galioides* Benth.). O poejo é uma espécie aromática e medicinal, autóctone do sul do Brasil, encontrada em regiões de campos nativos de altitude, onde os solos se caracterizam por apresentarem elevada acidez (pH 4,5 a 5.5) e altas concentrações de Al^{3+} . O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação utilizando-se recipientes com capacidade de 8 litros. Os tratamentos foram quatro dosagens de calcário dolomítico (PRNT 75 %) 0 ; 3,15; 12,5; e 25 g . L⁻¹ de substrato correspondendo a valores de pH 4,5 (original), 5,0, 6,1, e 6,7, respectivamente. O delineamento experimental foi completamente casualizado utilizando três quimiotipos (QT) de poejo (citrál, menteno e ocimeno), quatro tratamentos e 4 repetições, em esquema fatorial 3x4. Foram avaliados a matéria seca da parte aérea das plantas, o teor de óleo essencial e a composição química dos componentes majoritários presentes no óleo. Os resultados mostraram efeito da calagem na produção de biomassa, teor e composição química do óleo, ocorrendo efeito de interação entre quimiotipo e dosagem de calcário. Na maior dosagem observou-se a menor produção de biomassa média, o teor de óleo essencial foi significativamente menor, assim como os componentes citrál (QT-citrál) e limoneno (QT-menteno). Para o quimiotipo ocimeno as dosagens de calcário não influenciaram o teor e os componentes majoritários do óleo essencial, mas prejudicaram a produção de biomassa em doses elevadas. A calagem com 3,15 g.L⁻¹ de substrato, elevando o pH para 5,0, pode ser considerada a melhor dosagem de calcário e faixa de pH para a produção de poejo, nas condições experimentais avaliadas.

Palavras-chave: plantas medicinais, quimiotipos, acidez do solo

ABSTRACT**Biomass and essential oil: effect of liming on the growth of poejo (*Cunila galioides* Benth.).**

Poejo is an aromatic and medicinal plant native of highland areas of south Brasil, in acid soils with high Al^{3+} concentration. The objective of the present work was to evaluate the effect of liming on the yield growth of essential oil in three chemotypes of poejo (*Cunila galioides* Benth). The experiment was performed in a greenhouse, in 8-liter pots. The treatments were four dosages of lime (0 ; 3,15; 12,5; e 25 g . L⁻¹). A completely random experimental design was used, with four replications and three chemotypes, set up in a 3 x 4 factorial arrangement. The parameters evaluated were dry weight of aerial parts, essential oil content and chemical composition of essential oil. The results showed that liming affects the biomass production, essential oil yield and chemical composition, and interaction occurs between chemotype and lime dosage. In the higher dosage low biomass production, yield of essential oil and citral (citral chemotype) and limonene (menthene chemotype) concentration was observed. In the ocimene chemotype no influence of liming was observed on essential oil yield and majority compounds. The dosage of 3,15 g . L⁻¹ can be considered the best limestone dosage for the production of poejo in the experimental conditions evaluated.

Keywords: medicinal plants, chemotypes, acid soil

3.1. INTRODUÇÃO

O poejo (*Cunila galioides* Benth.) é uma planta aromática e medicinal pertencente à família Lamiaceae (Simões et al., 1998). É uma das 12 espécies autóctones da América do Sul encontrada, naturalmente, em campos nativos de altitude do sul do Brasil (Coelho de Souza & Elisabetsky, 1998; Bordignon et al., 2003; Fracaro et al., 2005). Ocorre uma grande variabilidade química no óleo essencial desta espécie, nas diferentes populações do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, sendo descritos na literatura três quimiotipos (QT): QT citral; QT ocimeno e QT menteno (Echeverrigaray et al., 2003). As propriedades medicinais e aromáticas

e o bom rendimento de óleo essencial sugerem a possibilidade da utilização do poejo em escala comercial. Para isto são necessários estudos que visem a domesticação da espécie utilizando práticas fitotécnicas com o intuito de aumentar os rendimentos, sem afetar as propriedades químicas da planta.

Segundo Freitas et al. (2004) a biossíntese de metabólitos secundários em plantas aromáticas e medicinais depende de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, sendo importante a avaliação dos fatores que influenciam as concentrações dos princípios ativos nas plantas determinando sua qualidade aromática ou eficácia terapêutica.

Em diversas espécies de plantas aromáticas e medicinais estão sendo conduzidos alguns estudos com o objetivo de avaliar a influência de práticas culturais como irrigação, densidade de plantio, nutrição e calagem na produção de óleos essenciais (Rao, 2001; Sousa et al., 2001; Ram et al., 2003; Hassanali, et al., 2004; Tanu & Adholeya, 2004).

A calagem é uma prática comum na agricultura, tendo como objetivo o aumento da produtividade dos cultivos. Além de diminuir a acidez e os efeitos tóxicos do alumínio, uma série de modificações químicas ocorrem no solo em virtude da calagem, tais como o aumento da disponibilidade de nutrientes, como cálcio, magnésio, fósforo e enxofre e a diminuição da disponibilidade de boro, cobre, zinco e manganês. Também atribui-se à calagem um aumento na atividade microbológica e no teor de matéria orgânica do solo, bem como a alteração no comportamento eletroquímico dos colóides, em decorrência das modificações químicas, influenciando as propriedades físicas do solo (Ferraz de Mello et al., 1983; Bohnen et al., 2000; Albuquerque et al., 2003).

No Brasil praticamente inexistem estudos referentes à correção do solo e seus efeitos na produção de óleos essenciais de forma quantitativa e qualitativa. No Rio Grande do Sul, estudos referentes à calagem são de grande importância, principalmente com espécies nativas com potencial de domesticação, visto que a maioria dos solos onde estas plantas são encontradas vegetando espontaneamente são ácidos.

Neste sentido objetivou-se, neste trabalho, avaliar a produção de biomassa e óleo essencial em três populações e três quimiotipos de poejo cultivadas em casa-de-vegetação, como resposta a níveis de pH obtidos com distas doses de calcário aplicadas ao substrato de cultivo.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação localizada no Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (29°09'78"S; 51°08'66"W, 725 m de altitude). Foram utilizadas três populações de poejo: André da Rocha – AR; Bom Jardim da Serra – BJ e Santa Lúcia – SL, correspondentes aos quimiotipos citral, ocimeno e menteno, respectivamente (Echeverrigaray et al., 2003).

As plantas utilizadas no estudo foram propagadas por estaquia (agosto de 2003), a partir de estacas apicais de dez centímetros de comprimento, contendo folhas, retiradas de plantas matrizes de um ano de idade, cultivadas em casa-de-vegetação. Utilizou-se casca de arroz carbonizada (CAC) como substrato e 250 mg·L⁻¹ de AIB aplicado na base da estaca.

O plantio foi realizado no dia 17 de setembro de 2003 em recipientes plásticos com volume de 8 litros (Apêndice IV e V). Utilizou-se como substrato um solo, retirado da camada arável, com unidade de mapeamento Caxias e taxonomicamente classificado como Neossolo Litólico distófico típico (Streck, 2002). A irrigação foi localizada e realizada por meio de mangueiras de gotejamento autocompensadas, mantendo o solo próximo à capacidade de campo.

O delineamento experimental foi completamente casualizado em esquema fatorial 3 x 4, sendo os fatores 3 populações de poejo e 4 níveis de pH no solo (4,5; 5,0; 6,1 e 6,7), com 4 repetições e 3 plantas por parcela, totalizando 144 plantas avaliadas.

Para proceder a calagem e obter os níveis desejados de pH, foi realizada a calibração do pH adicionando-se calcário dolomítico (PRNT 75,1 %) a um litro de solo, nas seguintes dosagens: 0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0; 17,5; 20,0; 22,5 e 25,0 g . L⁻¹, com três repetições. Após a incorporação homogênea do calcário e umedecimento até a capacidade de campo, o solo foi incubado por 30 dias sendo o pH avaliado após este período e determinando-se, assim, a equação de calibração do pH do substrato ($y = 4,54 + 0,375627x - 0,023920x^2 - 0,000515x^3$, $R^2 = 0,96$).

A partir desta equação procedeu-se a calagem do substrato para a realização do experimento, sendo a mistura realizada com o auxílio de uma betoneira. Após este procedimento o substrato foi colocado nos recipientes, umedecido até a capacidade de recipiente e coberto com uma lona plástica preta por 30 dias. Após este período quatro amostras compostas de substrato, correspondentes ao mesmo tratamento, foram coletadas e submetidas à análise química no Laboratório de

Análise Química do Solo da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para verificação do pH (Tabela 2).

Previamente ao plantio foi realizada adubação de base com N = 100, P₂O₅= 400 e K₂O= 200 mg.L⁻¹ de substrato, utilizando-se a formulação comercial NPK 5:20:10.

O experimento foi conduzido até a floração das plantas sendo realizadas duas colheitas. A primeira, na fase vegetativa (dezembro de 2003) e, a segunda, na floração plena (abril de 2004). Após a colheita, as plantas foram desidratadas em secador com ventilação forçada de ar, à 35° C, até massa constante e armazenadas em saco de papel até a extração do óleo essencial. O óleo essencial foi extraído de uma amostra de 100 g de material vegetal, obtida de uma mistura homogênea das três plantas que compunham a parcela experimental. A extração foi feita pelo método da hidrodestilação, por uma hora, com três repetições. As análises químicas foram realizadas por cromatografia, sendo as análises quantitativas realizadas em cromatógrafo gasoso (HP 6890) equipado com processador de dados e coluna capilar HP – Inovax, gás de arraste H₂ (34 Kpa), razão split 1:50 e volume de óleo injetado de 1·10⁻⁹ m³ diluído em 1 mL de Hexano. As análises qualitativas foram realizadas em cromatógrafo gasoso acoplado a detector seletivo de massas HP (GC6890/MSD5973), equipado com biblioteca de espectro Wiley 275. A identificação dos componentes foi realizada por comparação dos espectros de massa dos compostos com os da biblioteca Wiley e por comparação de dados da literatura.

As avaliações realizadas foram matéria seca da parte aérea (MSA - gramas) total, produzida nas duas colheitas; teor de óleo essencial e concentração dos componentes majoritários presentes no óleo.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey a 1% com auxílio do programa computacional SPSS 11.5.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O valor de pH desejado e atingido após a calagem em cada tratamento, bem como o pH do substrato no final do experimento são apresentados na Tabela 1. Pode-se observar nesta tabela que o pH ficou abaixo do valor desejado, porém com efeitos significativos nas propriedades químicas do substrato (Tabela 2). No final do experimento, o substrato que não recebeu calagem (pH original 4,5) mostrou uma maior redução no pH ($4,08 \pm 0,12$). Este fato pode ser explicado, pela maior absorção de NH_4^+ que ocorre em solos muito ácidos, onde a nitrificação é normalmente inibida, ocorrendo a acidificação do substrato em virtude da diferença na liberação de H^+ ou OH^- , relacionada com o balanço total de íons absorvidos, principalmente na forma de nitrogênio (Bracinni et al., 2000).

TABELA 1. Quantidade de calcário aplicada, pH desejado e pH atingido em substrato utilizado para cultivo de poejo (*C. galioides* Benth.).

Tratamentos	Dosagem de calcário (g .L ⁻¹)	pH ¹	pH ²	PH ³ ± DP
1	0	4,5	4,5	4,08 ± 0,12
2	3,15	5,5	5,0	4,70 ± 0,28
3	12,5	6,5	6,1	5,90 ± 0,22
4	25,0	7,0	6,7	6,90 ± 0,11

¹ pH desejado com base na curva de calibração; ² pH atingido 30 dias após a calagem; ³ pH médio de cada tratamento após a colheita das plantas (220 dias após a calagem); n= 48; DP – desvio padrão.

Além de corrigir a acidez do solo elevando o pH, a calagem afeta a disponibilidade de nutrientes para as plantas, aumentando a disponibilidade de cálcio, magnésio, fósforo e enxofre, e diminuindo a disponibilidade de boro, cobre, zinco e manganês (Ferraz de Mello et al., 1983; Bohnen et al., 2000). Com exceção de fósforo e boro, estes efeitos foram observados no substrato após a calagem, segundo o resultado da análise química. Também se observou um aumento no teor de matéria orgânica do substrato que recebeu calagem, possivelmente pela maior atividade microbológica (Ferraz de Mello et al., 1983) (Tabela 2).

TABELA 2. Análise química do substrato original e submetido à calagem para a adequação do pH e definição dos tratamentos, após 30 dias de incubação.

Tratamentos*	Argila %	pH H ₂ O	Índice SMP	P mg.L ⁻¹	K mg.L ⁻¹	M.O. %	Al _{troc.} cmol _c L ⁻¹	Ca _{troc.} cmol _c L ⁻¹	Mg _{troc.} cmol _c L ⁻¹
1	33	4,5	4,3	3,7	50	4,6	8,0	0,4	0,3
2	29	5,0	4,8	1,1	50	5,2	3,2	4,3	4,1
3	34	6,1	5,9	0,9	42	6,1	0,0	10,1	6,1
4	34	6,7	6,5	1,2	31	6,0	0,0	11,1	13,3

Tratamentos*	Al + H cmol _c L ⁻¹	CTC cmol _c L ⁻¹	% SAT da CTC		RELAÇÕES		
			BASES	Al	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
1	16,5	17,4	5,0	46,0	1,3	3,1	2,3
2	10,5	19,1	45	16,8	1,0	34	32
3	3,9	20,2	81	0,0	1,7	94	57
4	2,3	26,8	92	0,0	0,8	140	167

Tratamentos*	S mg . L ⁻¹	Zn mg . L ⁻¹	Cu mg . L ⁻¹	B mg . L ⁻¹	Mn mg . L ⁻¹
1	18	0,7	1,2	0,7	13
2	20	0,5	0,6	0,5	10
3	38	0,1	0,1	0,4	1
4	36	0,1	0,1	0,6	1

*1. Solo original (0 g . L⁻¹); 2. Calagem (3,15 g . L⁻¹); 3. Calagem (12,5 g . L⁻¹); 4. Calagem (25,0 g . L⁻¹)

A diminuição de fósforo no substrato após a calagem, revelado pela análise de solo, parece entrar em contradição com a literatura. No entanto, Raij et al. (2001) afirmam que o problema pode estar no método extrator de P do solo utilizado nas análises de rotina (Mehlich-1), o qual pode não evidenciar este fato.

Com relação ao efeito da calagem sobre a produção de biomassa das três populações de poejo, pode-se observar, pela análise de variância, que, para o parâmetro matéria seca aérea (MSA), ocorrem diferenças estatísticas entre as doses de calcário aplicadas ao substrato e entre as populações de poejo, bem como a interação entre estes dois fatores (Tabela 3).

TABELA 3. Resumo da análise de variância (ANOVA) para o parâmetro matéria seca aérea (MSA) de três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivadas com diferentes doses de calcário; Caxias do Sul; 2004.

Causas da Variação	GL	MAS	
		QM	F
Calagem	3	2306,6	28,57**
Populações	2	2125,8	26,33**
Calagem x Populações	6	432,5	5,35**
Erro	132	80,71	
Total	143		
CV %			27,43

MSA - matéria seca aérea; ^{ns} não significativo; ** significativo a 1%;

Para a população André da Rocha não se observou diferença estatística entre os tratamentos para o parâmetro MSA, embora os valores absolutos encontrados nas dosagens 3,15 e 12,5 g . L⁻¹ (pH 5,0 e 6,1) tenham sido bastante superiores aos demais. Da mesma forma, para a população Santa Lúcia não evidenciou-se diferença significativa entre os tratamentos, porém os valores de MSA entre os

tratamentos, neste caso, mostraram-se mais semelhantes. A dosagem de $3,15 \text{ g.L}^{-1}$ de substrato (pH 5,0) foi a melhor para a produção matéria seca da população Bom Jardim da Serra notando-se uma forte redução no crescimento na dosagem de 25 g.L^{-1} (Tabela 4).

Entre as populações, quando cultivadas em condições de solo bastante ácido (pH 4,5), sem calagem, não houve diferenças de produção (Tabela 4). Com a menor dose de calcário, as populações André da Rocha e Bom Jardim apresentaram maiores valores de MSA ($63 \text{ g} \cdot \text{planta}^{-1}$) com relação à população Santa Lúcia ($47 \text{ g} \cdot \text{planta}^{-1}$). Na dosagem de $12,5 \text{ g.L}^{-1}$ (pH 6,1) André da Rocha foi superior às demais populações com $59 \text{ g} \cdot \text{planta}^{-1}$ de MSA. Na maior dosagem de calcário (pH 6,7) André da Rocha foi superior ($49 \text{ g} \cdot \text{planta}^{-1}$), Santa Lúcia intermediária ($38 \text{ g} \cdot \text{planta}^{-1}$) e Bom Jardim inferior ($29 \text{ g} \cdot \text{planta}^{-1}$) (Tabela 4).

Com relação à interação observada entre população e calagem, deve-se observar que, em cada região onde as populações de poejo foram coletadas em seu habitat natural, apresentam diferenças em suas características ecológicas, principalmente quanto a altitude, temperaturas médias anuais, tipo e fertilidade do solo (Echeverrigaray et al., 2003). Estas características podem levar a uma resposta distinta de cada população de acordo com a maior ou menor adaptação ao sistema produtivo. Neste caso, pode-se classificar as populações de poejo, além de quimiotipo, como ecotipos.

TABELA 4. Valores médios de matéria seca da parte aérea (MSA - g · planta⁻¹) para as três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivadas em substrato que recebeu distintas doses de calcário. Caxias do Sul, 2004.

Dose de calcário (g.L ⁻¹)	pH corrigido	POPULAÇÃO			Média
		AR ¹	BJ ²	SL ³	
0	4,5	48,97 a A	41,32 bc A	43,48 a A	44,59 b
3,15	5,1	63,04 a A	63,31 a A	47,64 a B	57,99 a
12,5	6,0	59,16 a A	44,19 b B	43,08 a B	48,81 b
25	6,7	49,82 a A	29,03 c B	38,21 a AB	39,02 c
Média		55,25 A	44,46 B	43,46 B	

Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ¹ André da Rocha; ² Bom Jardim da Serra; ³ - Santa Lúcia.

Por outro lado, todas as populações apresentam em comum o fato de serem encontradas em condições de solos ácidos, independente do tipo de solo de cada região, fazendo com que, de maneira geral, a dosagem de 3,15 g.L⁻¹ (pH 5,0) proporcione um maior rendimento de biomassa seca, apresentando uma resposta quadrática a aplicação de calcário, na média das populações (Figura 1).

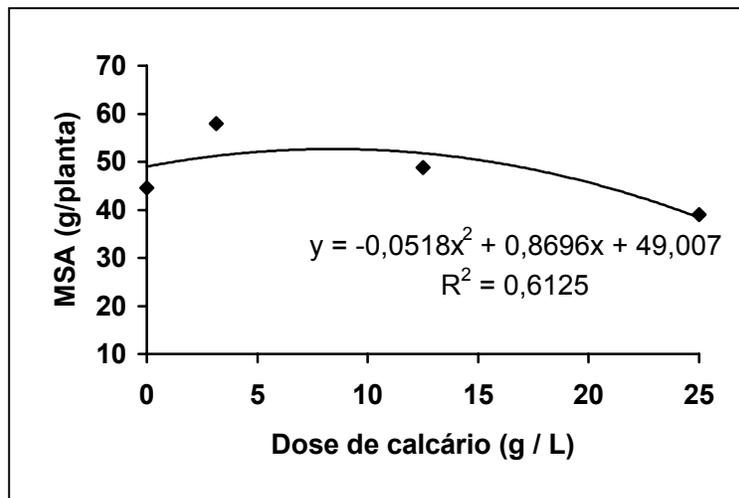


FIGURA 1. Resposta média de três populações de poejo, para a matéria seca da parte aérea (MSA) à aplicação de diferentes doses de calcário ao substrato com pH original 4,5. Caxias do Sul, 2004.

O teor de óleo essencial obtido nas três populações de poejo apresentou um efeito de interação entre população e dosagem de calcário. (Tabela 5).

TABELA 5. Resumo da análise de variância (ANOVA) para teor de óleo essencial das populações de poejo cultivadas em substrato com distintas doses de calcário.

Causas da Variação	GL	Teor de óleo essencial (%)	
		QM	F
População	2	7,60	1259 **
Calagem	3	0,055	9,06**
População x calagem	6	0,036	6,01**
Erro	24	0,006	
Total	35		
CV %		60,0	

Como pode ser observado na Figura 2, um maior teor de óleo foi obtido na população André da Rocha, seguido pela população Santa Lúcia e Bom Jardim da Serra em todos os níveis de calagem.

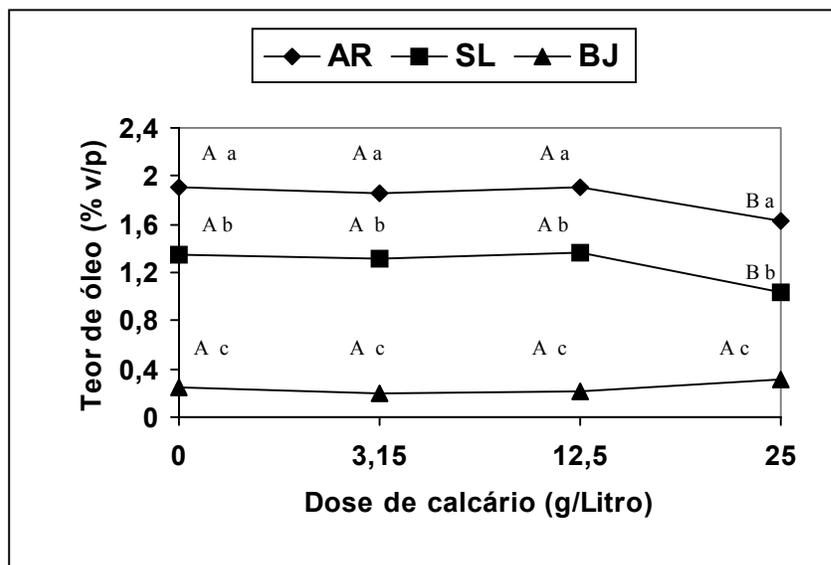


FIGURA 2. Efeito da interação entre população de poejo e dosagem de calcário aplicada ao substrato sobre o teor de óleo essencial (%v/m). AR- André da Rocha, SL – Santa Lúcia, BJ- Bom Jardim. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, maiúscula entre populações e minúscula entre dosagens, pelo teste de Tukey a 1%.

Fracaro et al. (2002) e Pauletti et al. (2002) também encontraram diferenças no teor de óleo essencial entre os quimiotipos de poejo com teores mais elevados no quimiotipo citral, seguido dos quimiotipos ocimeno e menteno. Diferenças no teor de óleo essencial entre variedades e quimiotipos de uma mesma espécie normalmente ocorrem e podem ser atribuídos a fatores genéticos, intrínsecos a cada população.

Por outro lado, os resultados demonstraram um efeito de interação entre a população e dosagem de calcário. A população Bom Jardim da Serra não apresentou diferença estatística no teor de óleo essencial em função das doses de calcário aplicadas ao substrato, diferindo das demais populações que na maior dosagem mostraram uma queda significativa no teor de óleo essencial (Figura 2).

Conforme relatado por Souza et al. (2001), não se observou um efeito muito pronunciado na produção de biomassa e óleo essencial de pimenta longa produzida em solo com e sem calcário. Segundo o mesmo autor em plantas que ocorrem naturalmente em solos ácido, como é o caso da pimenta longa e do poejo, espera-se uma certa tolerância destas plantas à acidez do solo.

As análises cromatográficas realizadas nos óleos essenciais identificaram citral (isômeros neral + geranial) na população André da Rocha, limoneno, borneol, 1,2,8 mentarieno e 1,5,8 mentatrieno na população Santa Lúcia e ledeno e cariofileno na população Bom Jardim da Serra como compostos majoritários. Estes compostos foram utilizados para avaliar o efeito da calagem sobre a composição química do óleo essencial das três populações de poejo. Estes compostos químicos também foram encontrados, nestas populações, por Echeverrigaray et al. (2003) e Fracaro et al. (2005).

Observou-se diferença estatística apenas para citral (Figura 3) e limoneno (Figura 4) presentes nas populações André da Rocha e Santa Lúcia, respectivamente.

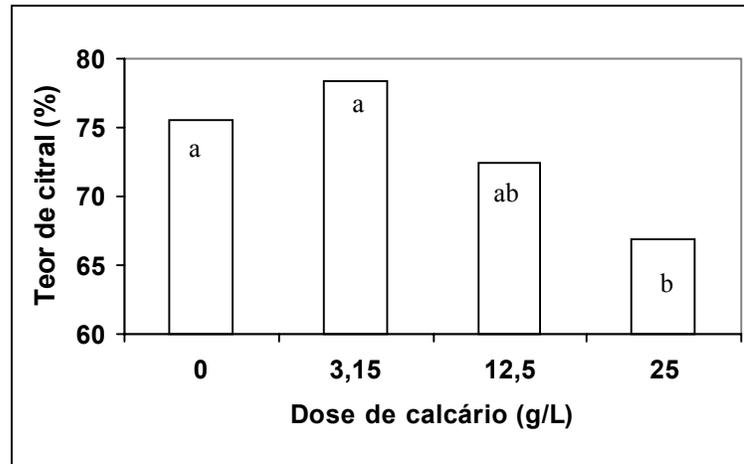


FIGURA 3. Teor de Citral na população André da Rocha cultivada em distintas faixas de pH do substrato. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. (CV=7,06%).

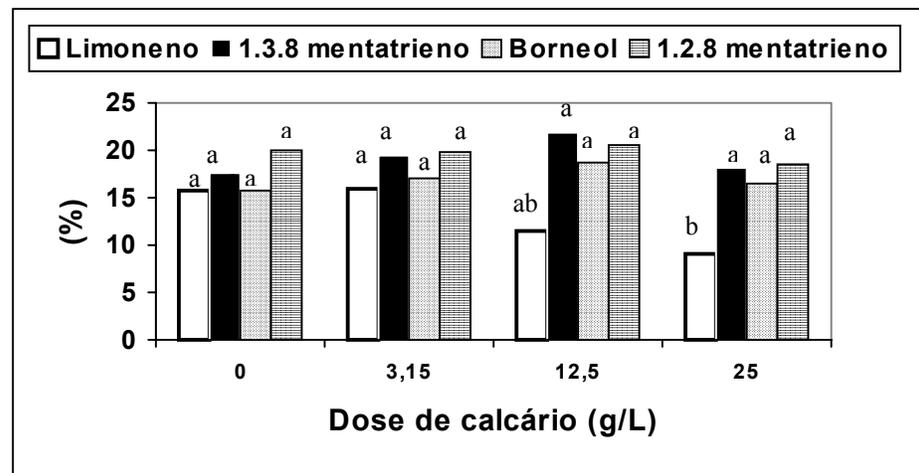


FIGURA 4. Concentração dos componentes majoritários limoneno (CV=27,78%), 1,3, 8 mentatrieno (CV= 14,88%), borneol (CV=10,28%) e 1, 2, 8, mentatrieno (CV=12,58%) presentes no óleo essencial da população Santa Lúcia cultivada em substrato com distintas doses de calcário. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

O maior percentual destes compostos foi observado nas plantas cultivadas sem calagem (pH 4,5) e na menor dosagem de calcário (pH 5,0). Na dosagem de 12,5 g.L⁻¹ (pH 6,1) a quantidade de citral e limoneno foi intermediária e na maior dosagem (pH 6,7) observou-se os menores conteúdos destes compostos.

As maiores concentrações de citral e limoneno foram observadas com aplicação de calcário na dosagem de 3,15 g.L⁻¹ de substrato (pH 5,0) com 78,44 % e 15,88 %, respectivamente, apresentando uma resposta quadrática ao efeito da calagem (Figura 5).

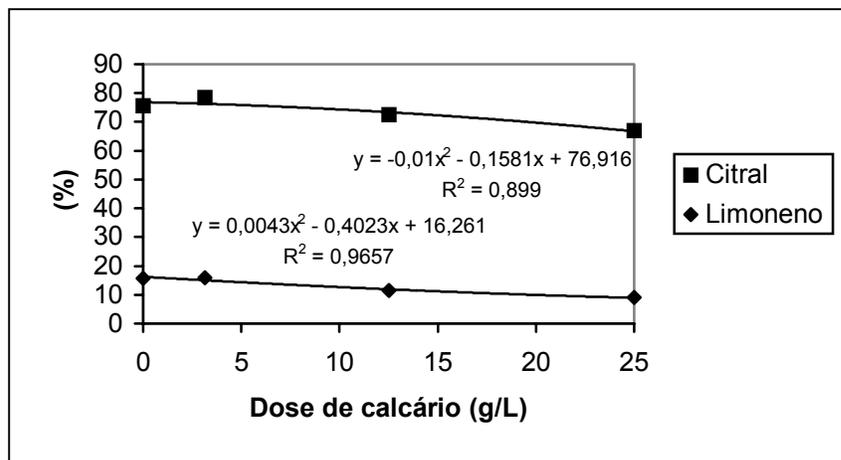


FIGURA 5. Concentração de citral e limoneno no óleo essencial das populações Santa Lúcia e André da Rocha, respectivamente, cultivadas sob distintas doses de calcário.

Pouco se sabe sobre a influência dos níveis de nutrientes do solo sobre a biossíntese de terpenos. No entanto, Freitas et al. (2004) constataram que o incremento de P no substrato de cultivo em *Mentha arvensis* (Lamiaceae), aumentou de forma quadrática o conteúdo do monoterpene mentol no óleo essencial. Segundo Kappor et al. (2004) e Rodrigues et al. (2004), a deficiência de P no tecido vegetal

da planta pode reduzir a fosforilação do ácido mevalônico (AMV), que é a etapa inicial para a síntese de isopentenilpirofosfato (IPP), via a rota clássica do mevalonato sintetizado a partir da acetil coenzima A, que é o precursor central dos monoterpenos, como o citral e o limoneno (Bruneton, 1991; Lange et al., 1998).

Os níveis de P nos substratos de cultivo do poejo, de acordo com a análise química do substrato são considerados muito baixos, no substrato sem calagem, e limitantes nos substratos que receberam calagem (Siqueira et al., 1989), sendo observado uma redução de P com a calagem (Tabela 2). Entretanto, previamente ao plantio, foi aplicado P na dosagem de 400 mg.L^{-1} de substrato, em todos os tratamentos. Considerando que a faixa de pH entre 6,0 e 7,0 é a melhor para disponibilidade de P às plantas (Ferraz de Mello et al., 1983), a hipótese de limitação de P não se confirma parecendo não ser a causa da redução no conteúdo dos monoterpenos citral e limoneno, em plantas de poejo cultivadas com calagem nas dosagens de 12,5 e 25 g. L^{-1} de substrato. Neste sentido, maiores estudos devem ser conduzidos com relação à influência de outros nutrientes, além de P, na síntese de terpenos, principalmente aqueles que são fortemente afetados em virtude da calagem ou do pH do solo como, por exemplo, o Fe e o Mn, a forma de N, entre outros.

Para a população Bom Jardim da Serra e para os demais componentes químicos majoritários presentes no óleo essencial da população Santa Lúcia a calagem não modificou a concentração dos componentes químicos como pode ser observado nas Figuras 4 e 6.

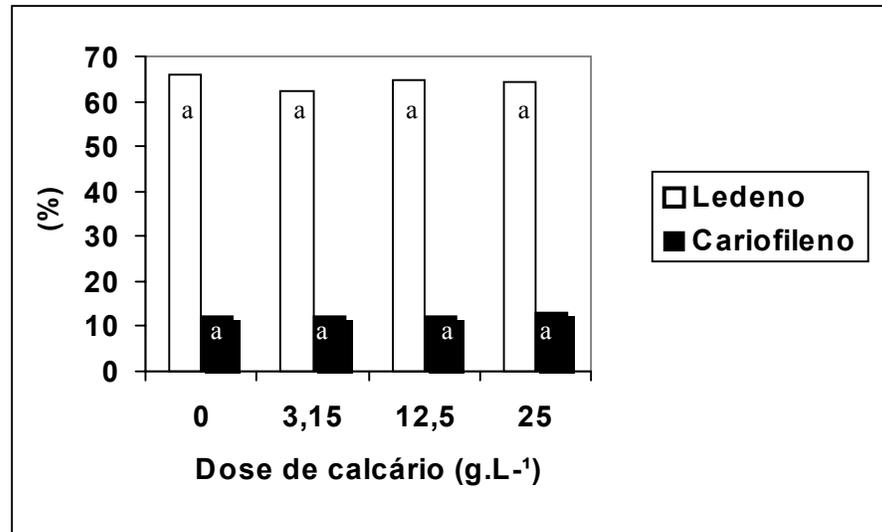


FIGURA 6. Concentração dos componentes majoritários ledeno (CV=3,70%) e cariofileno (CV= 7,99%) presentes no óleo essencial da população Bom Jardim da Serra cultivada em substrato com distintas doses de calcário. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

3.4. CONCLUSÕES

- A calagem com $3,15 \text{ g.L}^{-1}$, elevando o pH para 5,0, promove os melhores rendimentos em termos de produção de biomassa e melhora, ou não afeta, o teor de óleo essencial e a concentração dos componentes majoritários presentes no óleo.
- O teor de óleo essencial é afetado negativamente quando efetua-se calagem na maior dosagem (25 g.L^{-1}), com exceção da população Bom Jardim que não teve o teor de óleo essencial afetado, demonstrando um efeito de interação;
- Os componentes químicos majoritários dos óleos essenciais de algumas populações foram afetados em virtude da calagem. Citral na população André da Rocha e limoneno na população Santa Lúcia diminuíram significativamente sua concentração quando foi aplicado $25,0 \text{ g.L}^{-1}$ de calcário ao substrato.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, J. A.; BAYER, C.; ERNANI, P. R.; MAFRA, A. L.; FONTANA, E. C. Aplicação de calcário e fósforo e estabilidade da estrutura de um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 799-806, 2003.
- BOHNEN, H.; MAURER, E. J.; BISSANI, C. A. Solos ácidos e solos afetados por sais. In: MEURER, E. J. **Fundamentos de Química do solo**. Porto Alegre: Gênese, 2000, p. 109-125.
- BORDIGNON, S. A. L.; MONTANHA, J. A.; SCHENKEL, E. P. Flavones and flavanones from South América species (Lamiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 31, p. 785-788, 2003.
- BRACINNI, M. C. L.; MARTINEZ, H. E. P.; BRANCINNI, A. L.; MENDONÇA, S. M. Avaliação do pH da rizosfera de genótipos de café em resposta a toxidez de alumínio no solo. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 83-88, 2000.
- BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Acribia, 1991, 594 p.
- COELHO DE SOUZA, G. P.; ELISABETSKY, E. I. Ethnobotany and anticonvulsant properties of Lamiaceae from Rio Grande do Sul (Brazil). **Lamiales Newsletter**, London, v. 6, p. 10-13, 1998.
- ECHEVERRIGARAY, S.; FRACARO, F.; SANTOS, A. C.; PAROUL, N.; WASUM, R.; SERAFINI, L. A. Essential oil composition of South Brazilian populations of *Cunila galioides* Benth. and its relation with the geographic distribution. **Biochemistry Systematic and Ecology**, Oxford, v. 31, p. 467-475, 2003.
- FERRAZ DE MELLO, F. A.; SOBRINHO, M. O. C. B; ARZOLLA, S.; SILVEIRA, R. I.; NETTO, A. C.; KIEHL, J. C. **Fertilidade do Solo**. São Paulo: Nobel, 1983, 400 p.
- FRACARO, F.; ECHEVERRIGARAY, S. Micropropagation of *Cunila galioides* a popular medicinal plant of south Brazil. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 64, p. 1-4, 2001.
- FRACARO, F.; SERAFINI, L. A.; SANTOS, A. C. A.; PAROUL, N.; ECHEVERRIGARAY, S. Analysis of the Essential Oil Composition of *Cunila galioides* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v.14, p. 336-338, 2002.

FRACARO, F.; ZACARIA, J.; ECHEVERRIGARAY, S. RAPD based genetic relationships between populations of three chemotypes of *Cunila galioides* Benth. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, p. 409-417, 2005.

FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A.; VIEIRA, I. J. C. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 9, p. 887-894, 2004.

HASSANALI, N. B.; DARAB, M. A.; FATEMEH, N. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 19, p. 231-236, 2004.

KAPPOR, R.; GIRI, B.; HOOPANDER, G.; MUKERJI, K. G. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill. on mycorrhizal inoculation supplemented with P – fertilizer. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 93, p. 307-311, 2004.

LANGE, B. M.; WILDUNG, M. R.; McCASKILL, D.; CROTEAU, R. A family of transketolases that directs isoprenoid biosynthesis via a mevalonate-independent pathway. **Biochemistry**, Washington, v. 95, p. 2100-2104, 1998.

RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Os métodos de análise química do sistema IAC de análise de solo no contexto nacional. In: RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (ed). **Análise química para a avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001, p. 5-39.

RAM, M.; RAM, D.; ROY, S. K. Influence of an organic mulching on fertilizer nitrogen use efficiency and herb and essential oil yield in geranium (*Pelargonium graveolens*). **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 87, n. 3, p. 273-278, 2003.

RAO, B. R. R. Biomass and essential oil yields of rainfed palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. var. *motia* Burk.) supplied with different levels of organic manure and fertilizer nitrogen in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 14, p. 171-178, 2001.

RODRIGUES, C. R.; FAQUIM, V.; TREVISAN, D.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; RODRIGUES, T. M. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de coleta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 573-578, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANGE, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5º Ed., Porto Alegre:UFRGS, 1998, 173p.

SIQUEIRA, O. J. F.; SCHERER, E. E.; TASSINARI, G.; ANGHINONI, I.; PATELLA, J. F.; TEDESCO, M. J.; MILAN P. A.; ERNANI, P. R.; WIETHÖLTER, S. **Recomendação de adubação e calagem para os estados do Rio grande do Sul e Santa Catarina**. 2ªed. Passo Fundo: SBCS – Núcleo Regional Sul/EMBRAPA CNPT, 1989, 128 p.

SOUSA, M. M. M.; LÉDO, F. J. S.; PIMENTEL, F. A. Efeito da adubação e do calcário na produção de matéria seca e de óleo essencial de pimenta-longa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 405-409, 2001.

STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C. **Solos do Rio grande do Sul**. Porto Alegre: Emater/ UFRGS, 2002, 107 p.

TANU; A.; P.; ADHOLEYA, A. Effect of different organic manures/composts on the herbage and essential oil yield of *Cymbopogon winterianus* and their influence on the native AM population in a marginal alfisol. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 311-319, 2004.

CAPÍTULO IV

Produção de biomassa, flavonóides e óleo essencial em três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas ao estresse por alumínio.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes níveis de alumínio sobre poejo em cultivo hidropônico. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação com delineamento experimental completamente casualizado com quatro repetições em esquema fatorial 3x4. Os fatores utilizados foram 4 níveis de Al^{3+} e 3 populações de poejo. Foram avaliadas variáveis agronômicas (matéria seca da parte aérea, matéria seca radicular, comprimento radicular e nota de raiz) e químicas (teor de flavonóides, teor e concentração dos componentes majoritários no óleo essencial). Os resultados mostraram que $30,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de Al^{3+} na solução nutritiva afeta todas as variáveis agronômicas. A população André da Rocha mostrou-se a mais tolerante ao alumínio e a população Bom Jardim da Serra a mais sensível. A concentração de flavonóides aumentou significativamente nas populações tolerantes com aumento da concentração de alumínio na solução nutritiva, indicando uma relação entre tolerância e produção de flavonóides. O teor de óleo essencial e a concentração dos componentes majoritários não foram afetados pelo alumínio.

Palavras-chaves: hidroponia, plantas medicinais, compostos fenólicos, terpenos.

ABSTRACT

Evaluation of aluminium tolerance among three populations of *Cunila galioides* Benth.

The aim of this research was to evaluate the influence of different levels of aluminium on *Cunila galioides* Benth. in hydroponic systems. The treatments under greenhouse conditions followed a completely randomized experimental design, with 4 replications, four concentrations of Al^{3+} and three populations of *Cunila galioides*. The plant parameters evaluated were dry matter of shoots, weight dry matter of root, root length and score of root. The results showed that the addition of 30.0 mg/L of Al^{3+} to the nutrient solution leads to a decrease of all parameters evaluated. André da Rocha population was the more tolerant to aluminium and Bom Jardim da Serra the more sensitive. The concentration of flavonoids increased significantly in the

populations that tolerated the increased aluminium concentration in the nutrient solution, indicating a relationship between tolerance and flavonoid production. The essential oil content and the concentration of majority components were not affected by the aluminium.

Key words: hydroponic, medicinal plants, fenolic compounds, terpenes

4.1. INTRODUÇÃO

Cunila galioides Benth. (Lamiaceae) é uma planta aromática e medicinal nativa do sul do Brasil, encontrada vegetando espontaneamente nos campos de altitude e encosta da serra do nordeste do RS, SC e PR (Bordignon, 2003; Fracaro, 2005). Na medicina popular é utilizada como estimulante, aromática, antiespasmódica e em infecções respiratórias (Simões et al., 1998). São descritos três quimiotipos (QT) nesta espécie, QT citral, QT ocimeno e QT menteno (Echeverrigaray et al., 2003). Os locais onde esta planta normalmente é encontrada vegetando no RS são caracterizados como campos nativos de alta altitude, com temperaturas médias anuais variando entre 15 e 16°C, precipitação pluviométrica anual entre 1.500 e 2.000 mm e solos ácidos. Estes solos com pH entre 4,5 e 5,5, apresentam altos teores de Al^{3+} tóxico para muitas culturas, embora outras sejam beneficiadas (Velo et al., 2000). A toxicidade por alumínio é considerada o maior fator de estresse abiótico em solos com pH baixo (Torlá et al., 2005).

De acordo com Barceló & Poschenrieder (2002), um dos mecanismos de resistência de várias espécies vegetais ao alumínio no solo é a exudação radicular

de flavonóides formando um complexo entre estas substâncias e o alumínio, diminuindo seu efeito tóxico.

Os flavonóides representam um dos grupos de metabólitos secundários mais importantes e estruturalmente diversificados entre os produtos de origem vegetal e amplamente distribuídos no reino vegetal (Zuanazzi, 2000). Os mais de 4000 flavonóides descritos atualmente são classificados em 13 classes, incluindo flavonóis, flavonas, isoflavonas, pigmentos de antocianina, entre outras (Taylor & Grotewold, 2005). Esta diversidade estrutural reflete um maior grau de polimorfismo genético e expressão seletiva de diferentes genes que, codificados por enzimas, levam à produção de flavonóides específicos em resposta a diferentes estímulos ambientais (Sosa et al., 2005). Estes compostos possuem propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antitumorais, antitrombóticas, antimicrobianas, entre outras (Silva et al., 2005; Mambro & Fonseca, 2005).

Para os vegetais, os flavonóides apresentam importantes funções, como atração de polinizadores e outros organismos benéficos, são sinalizadores hormonais, facilitam a germinação do tubo polínico, proteção contra raios UV, funcionando ainda como fitoalexinas e composto alelopático (Mol et al., 1998; Taylor & Grotewold, 2005). São produzidos em pêlos glandulares na superfície de folhas, caules e inflorescências de muitas espécies da família Lamiaceae (Grayer et al., 2004).

Segundo Bordignon et al.(2003), flavonóides dos tipos flavonas e flavononas livres foram observados em quantidades expressivas nas espécies *Cunila incana*, *C. angustifolia*, *C. incisa* e, em menor quantidade, nas espécies *C. fasciculata* e *C. microscephala*. Em *Cunila galioides*, até o momento, não foi relatado na literatura a

presença de flavonóides. Segundo os mesmos autores o acúmulo destas substâncias parece estar relacionado com a adaptação às adversidades ambientais, sendo acumulados em espécies que vivem em ambientes semi-áridos ou de altitude.

Assim sendo, objetivou-se neste trabalho avaliar a influência de diferentes doses de alumínio na produção de três populações de poejo e quantificar o teor de flavonóides e óleos essenciais produzidos quando estas plantas são submetidas ao estresse, bem como avaliar a relação entre a produção de flavonóides e a tolerância das populações ao Al^{3+} em cultivo hidropônico.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados no estudo 3 quimiotipos (QT) de poejo denominados André da Rocha (QT citral); Santa Lúcia (QT menteno); Bom Jardim da Serra (QT ocimeno). As mudas utilizadas no estudo foram produzidas pelo método da estaquia em casca de arroz carbonizada sob nebulização intermitente, segundo descrição do capítulo 2.

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, localizada no Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, em setembro de 2003, utilizando um sistema hidropônico formado por um conjunto de quatro canos de PVC de 100 mm de diâmetro com suas extremidades tampadas. Na parte superior dos canos foram feitos orifícios a cada 15 cm nos quais as plantas foram fixadas com espuma comum. Cada cano foi preenchido com a solução nutritiva, correspondente ao tratamento, até uma altura de dois centímetros abaixo do orifício de fixação das plantas. A aeração do sistema foi realizada por meio de um compressor de ar, o qual distribuía o oxigênio constantemente no interior da solução nutritiva, ao lado de cada

planta, com o auxílio de mangueiras plásticas (Apêndice VI). A solução nutritiva foi renovada semanalmente e o pH ajustado diariamente e mantido em $4,0 \pm 0,2$ com adição de HCl ou NaOH.

Durante os primeiros 15 dias após o transplante, as plantas receberam solução nutritiva diluída a $\frac{1}{4}$ da concentração; nos 15 dias subseqüentes receberam solução nutritiva diluída a $\frac{1}{2}$, sendo submetidas aos tratamentos a partir deste período por mais 60 dias. A solução nutritiva utilizada (Tabela 1) foi a proposta por Waard (1969) modificada em relação à concentração de fósforo, que foi reduzida para $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de P para evitar a precipitação do alumínio (Veloso et al., 2000).

TABELA 1. Composição da solução nutritiva utilizada, modificada a partir de Waard (1969).

Nutrientes	Concentração (mg.L^{-1})	Nutrientes	Concentração (mg.L^{-1})
N – NO_3^-	80,50	B	0,50
N – NH_4^+	10,50	Cu	0,06
P	1,50	Fe	5,00
K	39,00	Mn	1,00
Mg	24,00	Mo	0,03
Ca	39,90	Zn	0,10
S	32,00		

Os tratamentos foram constituídos de quatro concentrações de alumínio (0; 7,5; 15,0 e 30 mg.L^{-1}), adicionado como $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e três populações de poejo em delineamento experimental completamente casualizado em esquema fatorial 3×4 , 4 repetições e a unidade experimental composta por três plantas.

A extração dos flavonóides totais foi realizada preparando-se um extrato hidroetanólico. Dois gramas de material vegetal desidratado e moído, retirado das três plantas que compunham a parcela experimental, foi extraído em 100 mL de

etanol 40% (v/v), sob refluxo, durante 30 minutos sendo a solução filtrada à quente após este período.

Para a quantificação dos flavonóides foi utilizada uma metodologia descrita por Adelman (2005) com algumas modificações. Esta metodologia baseia-se no complexo formado entre o alumínio e flavonóides em meio etanólico e posterior análise espectrofotométrica. Uma alíquota de 10 mL da solução extrativa foi tomada e transferida para um balão volumétrico, sendo seu volume completado para 100 mL com solução etanólica a 40 % (v/v). Separadamente, duas alíquotas de 10 mL foram transferidas para balões volumétricos de 25 mL. O primeiro balão (solução de compensação) teve seu volume completado com solução etanólica a 40 % (v/v) e o segundo, após acréscimo de 2,0 mL de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 0,5% (m/v), teve seu volume completado com a mesma solução etanólica (solução tratada). A absorvância da solução tratada foi medida espectrofotometricamente a 418 nm, após 30 minutos da adição de AlCl_3 à solução, contra a solução compensação. O comprimento de onda foi previamente determinado pela varredura de uma solução hidroetanólica (40% v/v) do padrão rutina complexado com cloreto de alumínio (0,5%) na proporção de 3:1.

Os resultados foram calculados conforme a equação:

$$C = \frac{A \cdot FD}{m \cdot Eo} \quad \text{Onde:}$$

C = concentração de flavonóides totais expressos em gramas de rutina por 100 g de droga vegetal seca (g%); A = absorvância; FD = fator de diluição (2500); m = massa da amostra (g); Eo = (19,4) coeficiente de absorção específica do complexo rutina-

alumínio determinado pela razão entre a absorvância do complexo (0,729) e a concentração do padrão rotina (0,0375 g · L⁻¹).

A extração do óleo essencial e as análises químicas dos componentes majoritários do mesmo foram realizadas de acordo com o protocolo desenvolvido por SANTOS et al. (2004). A extração foi realizada por CO₂ supercrítico utilizando um módulo de bancada HP 7680T contendo uma célula de extração em aço inoxidável autosselante de 7,10⁻⁶ m³ com os seguintes parâmetros de extração: tempo de 1800 segundos, temperatura de 60°C, pressão de 10 Mpa; fluxo de CO₂ de 16,7 x 10⁻⁹ m³ .s⁻¹. A amostra extraída foi retirada das três plantas que compunham a parcela experimental, formando uma amostra composta de 1 g, desidratada, contendo somente folhas.

As análises cromatográficas quantitativas foram realizadas em cromatógrafo gasoso (HP 6890) equipado com processador de dados e coluna capilar HP – Inovax, gás de arraste H₂ (34 Kpa), razão split 1:50 e volume de óleo injetado de 1 . 10⁻⁹ m³ diluído em 1 mL de Hexano. As análises qualitativas foram realizadas em cromatógrafo gasoso acoplado a detector seletivo de massas HP (GC6890/MSD5973), equipado com biblioteca de espectro Wiley 275. A identificação dos componentes foi realizada por comparação dos espectros de massa dos compostos com os da biblioteca Wiley e por comparação de dados da literatura.

A concentração de Al e Ca no tecido vegetal foi realizada na Central Analítica da Universidade de Caxias do Sul em Espectrômetro de Absorção Atômica, Spectra A 250 Plus Variam, conforme Standard Methods 17^a ED (1989).

Avaliaram-se parâmetros agrônômicos (matéria seca da parte aérea - MSA, matéria seca radicial - MSR; comprimento radicial – CR (medido em centímetros no

final do experimento) e nota de raízes – NR (segundo uma escala de notas previamente estabelecida), com quatro repetições e químicos (teor de flavonóides totais e teor e quantificação dos componentes majoritários presentes no óleo essencial) com três repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey 5 %) com auxílio do programa computacional SPSS 11.5.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância para os quatro parâmetros agrônômicos avaliados está apresentada na Tabela 2, na qual se pode observar efeito de interação entre concentrações de alumínio e populações de poejo apenas para comprimento radicial.

TABELA 2. Resumo da análise de variância (ANOVA) para os parâmetros avaliados nas três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio.

Causas da Variação	GL	MSA		MSR		CR		NOTA RAIZ	
		QM	F	QM	F	QM	F	QM	F
POP	2	16,50	25,44**	0,052	0,564 ^{ns}	101,00	38,69**	2,67	12,62**
AI	3	3,12	4,81**	0,264	2,840*	65,50	25,92**	1,00	4,73**
POP * AI	6	0,58	0,89 ^{ns}	0,122	1,314 ^{ns}	8,19	3,14*	0,28	1,34 ^{ns}
Erro	132	0,64		0,093		2,61		0,21	
Total	143								
CV %		31,02		24,24		16,97		20,39	

^{ns} Não significativo; * Significativo a 5%; ** Significativo a 1%. POP-População; AI – Alumínio; MSA – matéria seca da parte aérea; MSR – matéria seca radicular; CR – Comprimento Radicial.

Nos demais parâmetros ocorreram diferenças significativas para os dois fatores, com exceção do MSR que apresentou diferença estatística apenas para os níveis de

alumínio da solução nutritiva. Para este parâmetro as médias entre as populações foram 1,28; 1,29 e 1,38 gramas/planta para Bom Jardim da Serra, Santa Lúcia e André da Rocha, respectivamente.

Na Tabela 3 encontram-se as médias de MSR onde se observa o maior valor nas plantas submetidas à solução nutritiva que não continha alumínio e o menor valor na maior dosagem, embora não exista diferença estatística com as dosagens intermediárias.

TABELA 3. Resultados médios de matéria seca radicular de plantas de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a diferentes níveis de Al. Caxias do Sul, 2003.

Dose de alumínio (mg/L)	PSR (g/planta)
0	1,52 a
7,5	1,33 ab
15,0	1,26 ab
30,0	1,17 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. PSR – Peso de matéria seca radicular.

Entre as populações, para os parâmetros MSA e nota de raiz, a figura 1A demonstra a superioridade da população André da Rocha (5,11 g/planta), em relação às demais populações. Para nota de raiz, apenas Bom Jardim da Serra mostrou-se significativamente inferior em relação as demais. Segundo Tang et al. (2003) genótipos tolerantes ao alumínio proliferam mais raízes e produzem maiores rendimentos de parte aérea que os sensíveis, devido a maior habilidade na busca de água e nutrientes.

Entre os níveis de alumínio (Figura 1B), para MSA, as plantas submetidas à dosagem de 30 mg.L⁻¹ (MSA = 3,27 gramas/planta), foram significativamente

inferiores aos níveis de 0 e 7,5 mg.L⁻¹ de alumínio (4,24 e 4,41 gramas/plantas, respectivamente). A adição de 15,0 mg.L⁻¹ de alumínio na solução nutritiva fez com que a média das plantas apresentasse um valor intermediário (3,85 g/planta). O mesmo comportamento foi observado para o parâmetro nota de raiz.

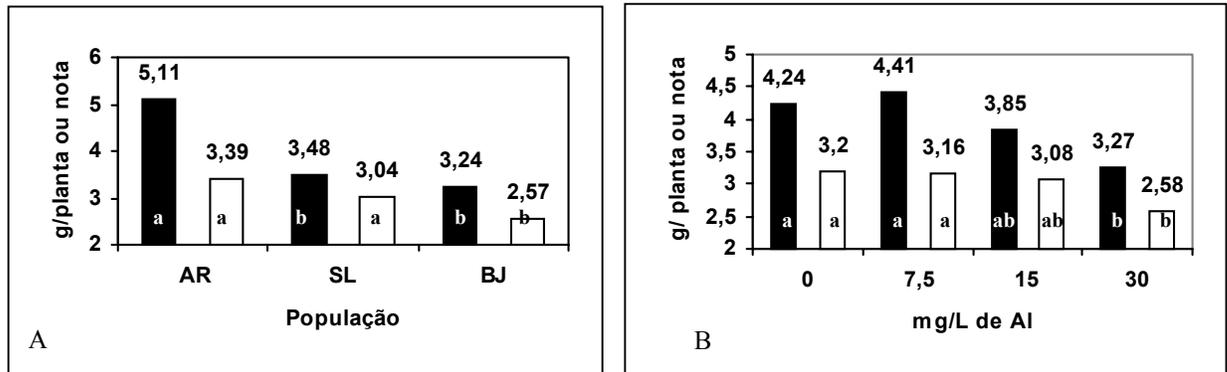


FIGURA 1. Valores médios para massa seca aérea (barras negras) e nota de raiz (barras brancas) entre as populações de poejo (1A) e entre os diferentes níveis de alumínio na solução nutritiva (1B). AR- André da Rocha, SL- Santa Lúcia, BJ- Bom Jardim da Serra.

Pode-se observar ainda na figura 1B, que a parte aérea das plantas cultivadas em solução com 7,5 mg.L⁻¹ de Al, tiveram um incremento na sua matéria seca quando comparadas com a solução sem alumínio. Este efeito foi relatado por Veloso et al. (2000), que afirmam que na utilização de espécies mais tolerantes, nota-se um estímulo na produção em baixas doses de Al e um rápido declínio em concentrações mais elevadas.

Na Tabela 4, encontram-se os valores médios da interação população x alumínio para comprimento radicial, onde pode-se observar que a população André da Rocha foi superior as demais populações em praticamente todas as concentrações de Al, principalmente nas dosagens mais elevadas. No entanto não ocorreram diferenças desta população para Bom Jardim da Serra em 0 mg.L⁻¹ de Al

e para Santa Lúcia em $7,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de Al. Diferenças quanto à tolerância e suscetibilidade ao alumínio são comuns entre plantas da mesma espécie e atribuídas a fatores genéticos (Tang et al., 2002).

TABELA 4. Efeitos da interação dos fatores alumínio e população no comprimento radicial de plantas de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a distintos níveis de alumínio em solução nutritiva. Caxias do Sul, 2003.

População	Comprimento de Raiz (cm)			
	Al 0 mg.L^{-1}	Al $7,5 \text{ mg.L}^{-1}$	Al 15 mg.L^{-1}	Al 30 mg.L^{-1}
André da Rocha	24,95 a A	21,99 a AB	23,49 a AB	21,04 a B
Bom Jardim da Serra	23,45 ab A	18,41 b B	16,07 b B	15,41 b B
Santa Lúcia	20,91 b A	19,41 ab A	18,58 b AB	15,99 b B

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não apresentam diferenças significativas ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Para a população Bom Jardim da Serra (Apêndice VII), a dosagem de $7,5 \text{ mg.L}^{-1}$ já afeta significativamente seu comprimento radicial, que vai decaindo até a dosagem mais elevada de Al, embora sem diferença estatística. Este fato indica que esta população é a mais sensível ao estresse por alumínio. A ausência de diferença estatística para MSR entre as populações (Tabela 2), pode ser explicada pelo maior engrossamento das raízes, causando uma compensação na matéria seca radicial, o que foi observado mais acentuadamente nesta população. O engrossamento das raízes é descrito por vários autores como um dos sintomas característicos de plantas suscetíveis ao alumínio (Veloso et al., 2000; Barceló & Poschenrieder, 2002).

Para a população André da Rocha (Apêndice VII) observou-se diferença estatística para comprimento radicial apenas entre 0 e 30 mg.L^{-1} de Al. As demais dosagens influenciaram de forma intermediária. Para Santa Lúcia as dosagens 0 e

7,5 mg.L⁻¹ produziram os maiores valores de comprimento radicial, sendo superiores a dosagem 30,0 mg.L⁻¹.

As concentrações médias de Al e Ca presentes no tecido vegetal das três populações podem ser observadas na Figura 2. A quantidade de alumínio foi crescente no tecido vegetal conforme o aumento do Al na solução nutritiva, praticamente triplicando seu valor já na concentração de 7,5 mg.L⁻¹ de Al obedecendo a uma curva de regressão polinomial (Figura 2 A). Embora existam relatos na literatura do efeito antagônico e competitivo entre Ca e Al (Menosso et al., 2001; Echart & Cavalli-Molina, 2001), somente no maior nível de Al observou-se uma queda mais significativa de Ca no tecido vegetal, abaixo de 400 mg . 100 g⁻¹ de tecido, adequando-se a uma regressão polinomial mesmo com baixo coeficiente de determinação (Figura 2B). Resultados semelhantes foram encontrados por Mendonça et al. (2003) trabalhando com arroz, onde observaram maior redução no teor de Ca da parte aérea de cultivares tolerantes, na maior concentração de alumínio.

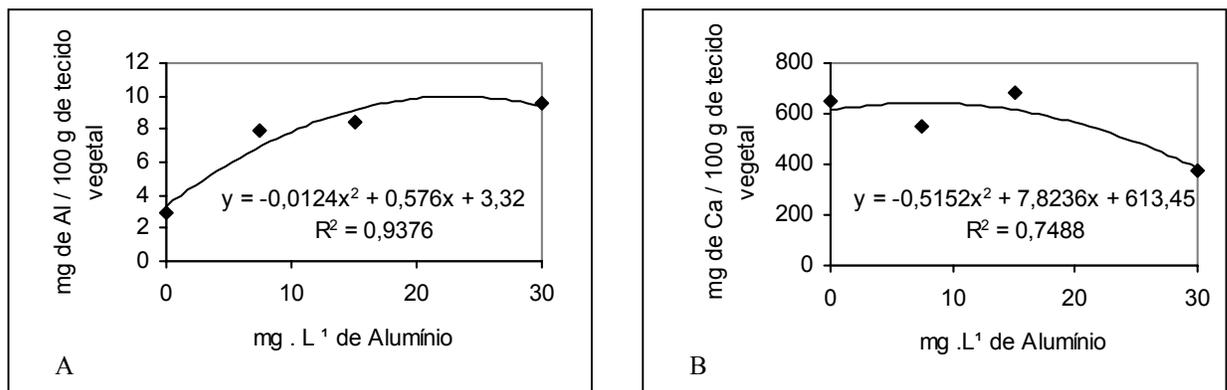


FIGURA 2. Concentração média de Alumínio (A) e Cálcio (B) no tecido vegetal de três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a distintos níveis de alumínio em solução nutritiva. Caxias do Sul, 2003.

O resumo da análise de variância para a produção de flavonóides e óleo essencial encontra-se na Tabela 5. Nesta tabela pode-se observar o efeito da interação entre população e alumínio para o parâmetro produção de flavonóides e diferença estatística apenas entre as populações para teor de óleo essencial.

TABELA 5. Resumo da análise de variância (ANOVA) para teor de óleo essencial e concentração do componente majoritário nas três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva.

Causas da Variação	GL	Flavonóides (g / 100 gramas)		Óleo essencial			
				Teor (%)		Componente majoritário (%)	
		QM	F	QM	F	QM	F
POP	2	4,95	14,48**	0,084	195,0 **	0,83	0,44 ^{ns}
TRAT	3	6,28	18,37**	0,0038	0,874 ^{ns}	0,051	0,98 ^{ns}
POP x TRAT	6	1,21	3,55*	0,0077	1,789 ^{ns}	0,59	0,71 ^{ns}
ERRO	24	0,34		0,0043		160,33	
TOTAL	35						
CV %		9,62		43,00		14,05	

** significativo a 1%; significativo a 5%; ^{ns} não significativo.

Para as populações André da Rocha e Santa Lúcia a quantidade de flavonóides produzido aumenta com o incremento de alumínio na solução nutritiva, sendo que as quantidades produzidas na solução com mais alta concentração de alumínio são significativamente superiores a solução sem alumínio. Na concentração de 30 mg.L⁻¹, Bom Jardim da Serra mostra-se inferior as demais populações. Isto não ocorre na concentração de 15 mg.L⁻¹ onde as populações não diferenciam-se. Em 7,5 mg.L⁻¹ de Al, André da Rocha é superior as demais populações e na ausência de Al, é superior apenas a população Santa Lúcia. Para esta população a quantidade de flavonóides produzida em 15 mg.L⁻¹ de Al é significativamente superior ao produzido

na solução sem alumínio e inferior ao produzido em 30 mg.L⁻¹. Para André da Rocha não existe diferença estatística entre todas as soluções que contém alumínio e para Bom Jardim da Serra não observou-se diferença entre os tratamentos (Tabela 6).

TABELA 6. Quantidade média de flavonóides (gramas de rutina /100 g de material vegetal seco) em três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva. Caxias do Sul, 2003.

POPULAÇÃO	Al na solução nutritiva (mg/ L)				Média
	0	7,5	15,0	30,0	
AR	11,67 a B	12,45 a AB	12,19 a AB	13,22 a A	12,38 a
BJ	10,64 ab A	11,03 b A	11,76 a A	11,65 b A	11,27 b
SL	9,98 b C	10,36 b BC	11,42 a B	13,30 a A	11,26 b
Média	10,76 C	11,28 BC	11,79 B	12,72 A	
CV %	8,27	9,57	3,64	7,86	

Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %. AR- André da Rocha; BJ – Bom Jardim da Serra; SL – Santa Lúcia.

Diferenças na produção de flavonóides entre populações de uma mesma espécie são atribuídas a fatores genéticos, enquanto as variações quantitativas e qualitativas entre as populações podem ser impostas pelas diferentes funções ecológicas destes compostos, produzidos em resposta às distintas condições ambientais (Sosa et al., 2005).

Torlà et al. (2005) cultivando *Rumex acetosa* L. em solução nutritiva com elevado teor de alumínio observaram a produção de altos teores de flavonóides na parte aérea das plantas. Os autores sugerem que os compostos fenólicos são os responsáveis pela tolerância das plantas a elevadas concentrações de alumínio no tecido vegetal.

Segundo Barceló & Poschenrieder (2002) a produção de flavonóides ou o aumento na produção deste tipo de metabólito secundário em condições de estresse

pode explicar a tolerância de algumas espécies vegetais ao alumínio. Nesta hipótese, duas estratégias podem ser utilizadas pela planta, representadas por duas classes distintas. A primeira é a inativação do Al fora da planta com os flavonóides sendo exudados e atuando como compostos quelantes. A segunda classe de mecanismos de tolerância é a neutralização dentro da planta com complexação e inativação do Al no citosol ou vacúolos (Echart & Cavalli-Molina, 2001).

Todas as populações utilizadas no estudo produziram, em média, valores entre 9,98 e 11,67 g de flavonóides / 100 g de tecido vegetal, mesmo na solução sem alumínio, não sofrendo danos severos em decorrência do estresse por alumínio, principalmente quando comparadas com outras culturas. Estas populações podem ser consideradas, de certa forma, tolerantes a este elemento, mesmo que, em níveis muito elevados de alumínio, tenham demonstrado queda em alguns parâmetros produtivos.

Em todas as populações observa-se uma tendência de queda no comprimento e na matéria seca radicial com o aumento da dosagem de alumínio na solução nutritiva (Figura 1B, Tabela 3, Tabela 4). Segundo alguns autores, o sistema radicial é um parâmetro importante na seleção de genótipos tolerantes ao alumínio sendo a região mais afetada nas plantas submetidas a este tipo de estresse. A inibição da produção radicial é considerada o efeito primário da toxidez por alumínio em plantas (Larsen et al., 1998; Mazzocato et al. 2002).

Na Figura 3 pode-se observar que a produção de flavonóides está inversamente relacionada com a produção de biomassa radicial. Com a diminuição na matéria seca radicial observa-se também o aumento na produção de flavonóides em resposta a uma situação de estresse. Neste sentido, diversos autores comentam

o papel dos flavonóides na defesa da planta e que os fatores ambientais estão envolvidos na síntese destes metabólitos (Bruneton, 1991; Zunazzi, 2001; Sosa et al., 2005; Taylor & Grotewold, 2005).

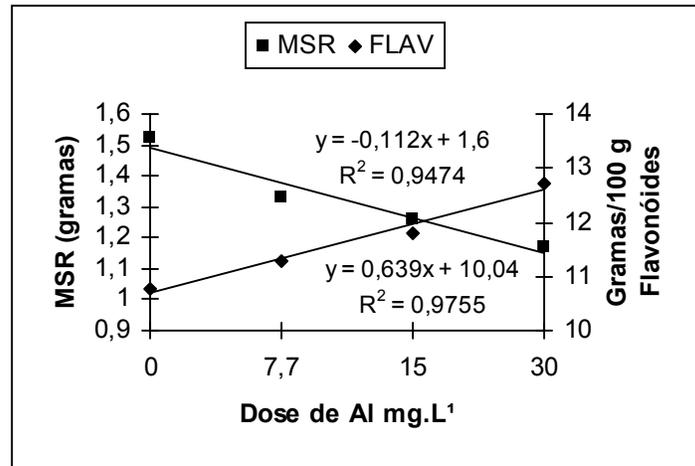


FIGURA 3. Relação entre a concentração média de flavonóides totais e matéria seca radicial (MSR) média nas três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio na solução nutritiva.

Relacionando a produção de flavonóides com a tolerância das populações observa-se que, a população Bom Jardim da Serra produziu quantidades de flavonóides estatisticamente idênticas em todos os níveis de Al (Tabela 6). Esta população, em particular, mostrou a maior redução no comprimento radicial, sendo inferior ao controle já na concentração mais baixa de alumínio (Tabela 4). Nas demais populações observou-se um aumento na produção de flavonóides e conseqüentemente um menor dano no sistema radicial, sendo ambas inferiores ao controle somente no nível mais alto de alumínio (Tabelas 4 e 6).

Estes resultados sugerem que o alumínio induz a produção de flavonóides conferindo tolerância às plantas em condições de estresse. Neste sentido, Suzuki et al. (2005) observaram aumento na concentração de flavonóides em trigo mourisco

(*Fagopyrum tataricum*), quando este foi submetido a condições de estresse (radiação UV e dessecação), sugerindo que os flavonóides podem ser considerados como ativadores do sistema de defesa em algumas espécies. A presença e a quantificação de flavonóides em espécies vegetais pode auxiliar na seleção, sendo um indicativo de genótipos tolerantes, e no entendimento dos mecanismos de resistência em plantas submetidas ao estresse por alumínio.

A extração do óleo essencial por CO₂ supercrítico evidenciou diferenças significativas no teor extraído entre as três populações. O maior teor foi observado na população Santa Lúcia (0,6 %), seguido por André da Rocha (0,44%) e Bom Jardim da Serra (0,085%) (Tabela 7). Santos et al. (2004) também trabalhando com extração por CO₂ supercrítico em poejo, população André da Rocha, encontraram resultados semelhantes em termos de teor e composição química do óleo essencial.

Diferenças no teor de óleo essencial entre populações, quimiotipos ou variedades de uma mesma espécie são observadas em várias representantes da família Lamiaceae e determinadas geneticamente, principalmente pela presença, em maior ou menor quantidade, de estruturas secretoras especializadas, como tricomas glandulares, características desta família (Lawrence, 1992; Corsi & Bottega, 1999).

TABELA 7. Teor de óleo essencial e concentração dos componentes majoritários nas três populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) submetidas a diferentes níveis de alumínio na solução nutritiva. Caxias do Sul, 2004.

População	Teor de O.E. (%)	Composto (s) majoritário (s)	
		Identificação	Concentração (%)
AR	0,44 b	Neral +Geranial	86,0
BJ	0,08 c	Ledeno	79,0
SL	0,60 a	1,38 mentatrieno + 1,5,8 mentatrieno	82,0

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. O.E.- Óleo essencial; AR- André da Rocha; BJ – Bom Jardim da Serra; SL – Santa Lúcia.

O método extrativo utilizado também pode exercer influência no rendimento. Pauletti et al. (2002) avaliando o teor de óleo essencial de distintas populações de poejo pelo método da hidrodestilação, observaram que este método resultou em teores superiores aos obtidos utilizando extração por CO₂ supercrítico e o teor de óleo na população André da Rocha foi muito superior ao obtido na população Santa Lúcia, ao contrário do observado neste trabalho.

Os tratamentos com alumínio não exerceram influência no teor de óleo essencial obtido e não observou-se interação entre os fatores população e alumínio. Foram identificados e quantificados quatro componentes químicos majoritários nas três populações de poejo. Citral (isômeros neral + geranial) na população André da Rocha (86%); Ledeno, na população Bom Jardim da Serra (79%) e 1,3,8 mentatrieno e 1,5,8 mentatrieno na população Santa Lúcia (82%). Da mesma forma que para o teor de óleo essencial os tratamentos com alumínio não influenciaram a concentração dos componentes majoritários presentes no óleo essencial de cada população (Tabela 7), corroborando as observações de Echeverrigaray et al. (2003), que atribuem as diferenças encontradas no óleo essencial de populações de poejo determinadas geneticamente com baixo efeito ambiental.

4.4. CONCLUSÕES

- Observa-se diferença de tolerância entre as populações de poejo ao alumínio, com a população Bom Jardim da Serra mostrando-se a mais sensível;
- A produção de flavonóides aumenta de acordo com o aumento do alumínio na solução nutritiva em algumas populações, indicando uma relação entre a produção de flavonóides e a tolerância das plantas;
- A produção quantitativa e qualitativa do óleo essencial não é afetada pelo alumínio;
- A produção de flavonóides parece ser mais afetada por variações ambientais do que a produção de óleo essencial;

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante**. Curitiba: UFPR, 2005. 185 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 48, p. 75-92, 2002.
- BORDIGNON, S. A. L.; MONTANHA, J. A.; SCHENKEL, E. P. Flavones and flavanones from South America species (Lamiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 31, 2003, p. 785-788.
- BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. Zaragoza: Acribia, 1991, 594 p.
- CORSI, G.; BOTTEGA, S. Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. **Annals of Botany**, Oxford, v. 84, p. 657-664, 1999.
- ECHART, C. L.; CAVALLI - MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismos de tolerância e seu controle genético. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 531-541, 2001.
- ECHEVERRIGARAY, S.; FRACARO, F.; SANTOS, A. C.; PAROUL, N.; WASUM, R.; SERAFINI, L. A. Essential oil composition of South Brazilian populations of *Cunila galioides* Benth. and its relation with the geographic distribution. **Biochemistry Systematic and Ecology**, Oxford, v. 31, 2003, p. 467-475.
- FRACARO, F.; SERAFINI, L. A.; SANTOS, A. C. A.; PAROUL, N.; ECHEVERRIGARAY, S. Analysis of the essential oil composition of *Cunila galioides* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 14, p. 336-338, 2002.
- FRACARO, F.; ZACARIA, J.; ECHEVERRIGARAY, S. RAPD based genetic relationships between populations of three chemotypes of *Cunila galioides* Benth. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, p. 409-417, 2005.

GRAYER, J. R.; VIEIRA, R. F.; PRICE, A. M.; KITE, G. C.; SIMON, J. E.; PATON, A. J. Characterization of cultivars within species of *Ocimum* by exudate flavonoid profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 32, p. 901-913, 2004.

LARSEN, P. B.; DEGENHARDT, J.; TAI, C. Y.; STENZLER, L. M.; HOWELL, S. H.; KOCHIAN, L. V. Aluminium-resistant Arabidopsis mutants that exhibit altered patterns of aluminium accumulation and organic acid release from roots. **Plant Physiology**, Rockville, v. 117, p. 9-18, 1998.

LAWRENCE, B. M. Chemical components of Labiate oils and their exploitation. In: HARLEY, R. M.; REYNOLDS, T (eds.). **Advances in Labiate science**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992, p. 399-436.

MAMBRO, V. M. D.; FONSECA, M. J. V. Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v.37, p-287-295, 2005.

MAZZOCATO, A. C.; ROCHA, P. S. G.; SERENO, M. J. C. M.; BOHNEN, H.; GRONGO, V.; BARBOSA NETO, J. F. Tolerância ao alumínio em plântulas de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p.19-24, 2002.

MENDONÇA, R. J.; CAMBRAIA, J.; OLIVEIRA, J. A.; OLIVA, M. A. Efeito do alumínio na absorção e na utilização de macronutrientes em duas cultivares de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n.7, p.843-848, 2003.

MENOSSO, O. G.; COSTA, J. A.; ANGHINONI, I.; BOHNEN, H. Crescimento radicular e produção de ácidos orgânicos em cultivares de soja com diferentes tolerâncias ao alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n.11, p. 1339-1345, 2001.

MOL, J.; GROTEWOLD, E.; KOES, R. How genes paint flowers and seeds. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 3, n. 6, p. 212-217, 1998.

PAULETTI, G. F.; BARROS, I. B. I.; ECHEVERRIGARAY, S.; SERAFINI, L. A.; ROTA, L. D.; SANTOS, A. C. Análise quantitativa da produção de óleos essenciais de *Cunila galioides* Benth. (poejo) cultivada no Rio Grande do Sul. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, suplemento 1, p. 408, 2003.

SANTOS, A. C. A.; PAULETTI, G. F.; ROTA, L. D.; PANSERA, M. R.; SERAFINI, L. A. Supercritical CO₂ extraction of *Cunila galioides* essential oil. In: V ENCONTRO BRASILEIRO DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS. UFSC, 2004, Florianópolis, SC. **Caderno de Resumos...** Florianópolis: Dpto. de Eng. Química e Eng.de Alimentos, UFSC, 2004, p.95.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANGE, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5º Ed., Porto Alegre: UFRGS, 1998, 173 p.

- SILVA, B. A.; FERRERES, F.; MALVA, J. O.; DIAS, A. C. P. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hipericum perforatum* alcoholic extracts. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 90, p.157-167, 2005.
- SOSA, T.; ALÍAS, J. C.; ESCUDERO, J. C.; CHAVES, N. Interpopulational variation in the flavonoid composition of *Cistus ladanifer* L. exudate. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, p. 353-364, 2005.
- SUZUKI, T.; HONDA, Y.; MUKASA, Y. Effects of UV-B radiation, cold and desiccation stress on rutin concentration and rutin glucosidase activity in tatarly cuckwheat (*Fagopyrum tataricum*) leaves. **Plant Science**, Shannon, v. 168, p.1303-1307, 2005.
- TANG, C.; RENGEL, Z.; ABRECHT, D.; TENNANT, D. Aluminium-tolerant wheat uses more water and yields higher than aluminium-sensitive one a sandy soil with subsurface acidity. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 78, p. 93-103, 2002.
- TANG, C.; RENGEL, Z.; DIATLOFF, E.; GAZEY, C. Responses of wheat and the barley to liming on a sandy soil with subsoil acidity. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 80, p. 235-244, 2003.
- TAYLOR, L.P.; GROTEWOLD, E. Flavonoids as developmental regulators. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.8, p. 317-323, 2005.
- TORLÁ, R. P.; POSCHENRIELDER, C.; LUPPI, B.; BARCELÓ, J. Aluminium-induced changes in the profiles of both organic acids and phenolic substances underlie Al tolerance in *Rumex acetosa* L. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 54, n. 3, p. 231-238, 2005.
- VELOSO, C. A. C.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T.; CARVALHO, E. J. M. Alumínio e absorção de cálcio por mudas de pimenta do reino. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n.1, p. 141-145, 2000.
- ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (organizadores). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC. 2° Ed. 2000, p. 489-516.

CAPÍTULO V

Produção de poejo (*Cunila galioides* Benth.) em cinco Regiões Agroecológicas no Rio Grande do Sul.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de biomassa e óleo essencial de nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivadas em cinco regiões do Rio Grande do Sul, com distintas condições edafoclimáticas. Os experimentos foram conduzidos em condições de campo em Erechim, Caxias do Sul, São Francisco de Paula, Pelotas e Santa Vitória do Palmar. O período do experimento foi de dezembro de 2003 a abril de 2004 em todas as localidades, estendendo-se até abril de 2005 no município de Erechim. O delineamento experimental foi totalmente casualizado, com nove populações, oito plantas por parcela e quatro repetições. Foram avaliados a produção de biomassa ($\text{Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$), o rendimento ($\text{L} \cdot \text{ha}^{-1}$) e a composição química dos óleos essenciais. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias. Avaliou-se também a adaptabilidade e a estabilidade das populações aos distintos ambientes pela de análise de regressão. Os resultados mostraram diferenças entre as populações e entre os locais, ocorrendo interação genótipo x ambiente. Erechim foi a localidade onde a maioria das populações apresentaram os melhores resultados em termos produtivos. Pelotas e Santa Vitória do Palmar foram as piores localidades para a produção de poejo, principalmente pela ocorrência de maior déficit hídrico. A população Santa Lúcia foi a que apresentou ampla estabilidade e maior adaptabilidade aos ambientes para produção de biomassa e óleo essencial, porém sua média não se mostrou satisfatória. A população André da Rocha apresentou a maior média de produção de óleo essencial, sendo favorecida em ambientes favoráveis. Com relação a composição química do óleo essencial as populações mantiveram as concentrações dos componentes majoritários praticamente estáveis, em todos os locais, com algumas variações. Observou-se, em algumas populações, uma maior concentração de sesquiterpenos que pode ser atribuído ao estresse ambiental.

Palavras Chaves: Óleo essencial, quimiotipos, influência ambiental, interação genótipo x ambiente.

ABSTRACT***Cunila galioides* (Benth.) production in five agroecological regions of Rio Grande do Sul.**

The objective of this study was to evaluate biomass and essential oil production in nine populations of poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivated in five regions in the state of Rio Grande do Sul, under different edaphoclimatic conditions. The experiments were performed in field conditions in Erechim, Caxias do Sul, Pelotas and Santa Vitoria do Palmar. The period of the experiment was from December 2003 to April 2004 at all locations, and in the municipality of Erechim it was extended until April 2005. The experimental design was completely randomized, with nine populations, eight plants per plot and four repetitions. The following were evaluated: biomass production ($\text{Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$), yield ($\text{L} \cdot \text{ha}^{-1}$) and chemical composition of essential oils. The data were submitted to analysis of variance and comparison of means. The adaptability and stability of the populations in the different environments were also evaluated, by regression analysis. The results showed great differences between the populations and cultivation sites, with genotype x environment interaction. Most populations presented the best results in terms of production in Erechim. Pelotas and Santa Vitória do Palmar were the worst locations for poejo production, above all because a great water deficit occurred during the period of the experiment. The Santa Lucia population presented broad stability and the greatest adaptability to the environments for biomass and essential oil production, but its average did not prove satisfactory. The André da Rocha population presented the highest mean production of essential oil, and was favored in favorable environments. As to the chemical composition of the essential oil, the populations maintained practically stable concentrations of majority components at all locations with a few variations. In some populations a higher concentration of sesquiterpenes was observed which can be attributed to environmental stress.

Key Words: Essential oil, chemotype, environmental influence, genotype x environment interaction.

5.1. INTRODUÇÃO

Cunila galioides Benth. (Lamiaceae) é uma planta aromática e medicinal nativa das regiões sul do Brasil, sendo encontrada naturalmente em regiões de altitude nos Campos de Cima da Serra e Encosta Superior Nordeste no Rio Grande do Sul e planaltos gaúcho e catarinense (Fracaro et al. 2002; Fracaro et al. 2005). Esta

espécie apresenta os quimiotipos citral, ocimeno e menteno, de acordo com os compostos majoritários presentes no seu óleo essencial, que estão em parte relacionados com a distribuição geográfica das populações (Echeverrigaray et al. 2003). A composição química do óleo essencial de diversas espécies de plantas tem sido atribuída a um maior controle genético ocorrendo baixo efeito ambiental (Hay & Waterman, 1993).

Echeverrigaray et al. (2003), cultivando clones de poejo em um ambiente distinto do ambiente original da espécie, observaram que as populações apresentaram a mesma composição química daquelas coletadas em seu habitat natural. Por outro lado, Loziene & Venskutonis (2005), cultivando *Thymus puleigoides*, em um mesmo local, por cinco anos consecutivos, observaram que, alguns quimiotipos podem sofrer maior efeito ambiental modificando consideravelmente a concentração dos componentes majoritários do óleo essencial, com relação aos valores encontrados em plantas coletadas em seu local de origem, voltando a ter a composição química original conforme as condições climáticas de cada ano de cultivo.

Um exemplo clássico do efeito ambiental na qualidade do óleo essencial é o que ocorre em menta (*Mentha piperita* – Lamiaceae) que, segundo Shahi et al. (1999), apresenta o metabolismo dos monoterpenos fortemente afetado pelo ambiente. Para esta espécie um menor fotoperíodo e elevadas temperaturas promovem a diminuição dos teores de mentol e o aumento nos teores de mentofurano, diminuindo a qualidade do óleo essencial (Bandoni, 2002).

Previamente a implantação do cultivo de espécies aromáticas e medicinais, deve-se ter em conta que, em função do solo e do clima em que se desenvolvem,

estas plantas podem ter um comportamento distinto não somente no aspecto produtivo, mas também na composição química do produto transformado, o qual determinará a qualidade do produto final obtido (Alquezar, 2003; Zhang, 2003).

Uma das etapas envolvidas no processo de domesticação de plantas aromáticas e medicinais nativas é a produção das plantas em algum sistema de cultivo, muitas vezes distinto de seu habitat original, o que pode acarretar modificações quantitativas e qualitativas em suas propriedades químicas. Neste sentido objetivou-se avaliar a produção de nove populações de poejo sob distintos ambientes edafológicos e climáticos de cultivo.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas no experimento nove populações de poejo (*C. galioides* Benth.) oriundas de diferentes municípios do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Tabela 1). As populações foram coletadas no período de 1999 a 2001 (Fracaro, 2001) e estão sendo mantidas *in vitro* e *in vivo* no laboratório de Biotecnologia Vegetal e no campo experimental do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, como parte do banco de germoplasma de espécies aromáticas e medicinais nativas do Laboratório de Óleos Essenciais. As exsiccatas das populações estão depositadas no herbário (HUCS) desta instituição.

TABELA 1. Local de coleta e quimiotipo de nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) utilizadas no estudo. Caxias do Sul, 2005.

POPULAÇÃO	LOCAL DE COLETA	QUIMIOTÍPO (QT)*
AR	André da Rocha – RS	Citral
MC	Muitos Capões – RS	Citral
CA	Capão Alto – RS	Ocimeno
BJ	Bom Jardim da Serra- RS	Ocimeno
CAM	Cambará- RS	Ocimeno
LA	Lages - SC	Menteno
SJ	São Joaquim - SC	Menteno
SL	Santa Lúcia - RS	Menteno
SJ2	São Joaquim 2- SC	Menteno

* Segundo Echeverrigaray et al. (2002)

A partir de plantas matrizes cultivadas em casa-de-vegetação foi feita a clonagem das populações pelo método da estaquia, com aplicação de AIB 250 mg.L⁻¹ na base da estaca, em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo casca de arroz carbonizada como substrato, mantidas sob nebulização intermitente por 60 dias.

O experimento foi realizado em condições de campo nos municípios de Erechim (Granja da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e Missões), Caxias do Sul (Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul), São Francisco de Paula (Fazenda Violeta, Grupo PETROPAR), Pelotas (EMBRAPA –CPACT) e Santa Vitória do Palmar (Horto da Prefeitura Municipal) correspondendo às regiões agroclimáticas Planalto Médio, Serra do Nordeste, Planalto Superior, Grandes Lagoas e Litoral, respectivamente (Rheinheimer et al., 2001). A Tabela 2 mostra a

localização geográfica e algumas características edafoclimáticas de cada local de cultivo.

TABELA 2. Localização geográfica e características edafoclimáticas de cada localidade onde foi realizado o cultivo de nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.).

Local	Coord. Geográfica	Altitude ¹ (m)	Precipitação* ¹ (mm)	T* ¹ ° C	UR* ¹ (%)	Classificação Taxonômica do solo ²
Erechim	27°38' S 52° 16' O	631	1700	18,0	77,5	Lotossolo vermelho aluminoférrico típico
Caxias do Sul	29°09' S 08°66' O	725	1600	16,0	80,0	Cambissolo húmico aluminico
São Francisco de Paula	28° 26' S 50°35' O	930	2200	15,0	80,0	Cambissolo húmico aluminico
Pelotas	31°41' S 52°25' O	54	1800	17,0	80,0	Argilossolo Vermelho – Amarelo distrófico
Santa Vitória do Palmar	33°31' S 53° 22' O	8	1200	17,0	80,0	Planossolo hidromórfico eutrófico

T – temperatura; UR – Umidade relativa; *médias anuais; Fontes:¹ Atlas Agrometeorológico do Rio Grande do Sul; ² EMBRAPA -CNPS,1999.

Em cada parcela experimental, previamente à instalação do experimento, foi coletada uma amostra de solo e encaminhada ao Laboratório de Solos e Tecidos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para análise química (Tabela 4).

Os dados climáticos médios, precipitação pluviométrica e temperatura, foram calculados a partir de dados diários fornecidos por estações meteorológicas da FEPAGRO (Erechim e Caxias do Sul), EMBRAPA-CPACT (Pelotas) e Agência da Lagoa Mirim–UFPEL (Santa Vitória do Palmar). Em São Francisco de Paula não foi possível obter o registro dos dados climáticos.

O delineamento experimental foi completamente casualizado com nove populações, oito plantas por parcela e quatro repetições, totalizando 288 plantas por local. Baseado em experimentos prévios, o espaçamento adotado foi de 0,6 m entre linhas e 0,5 m entre plantas na linha em uma área de 97,5 m² (15,0 x 6,5). O preparo

da área consistiu em aração e gradagem, e uma adubação de base com 500 Kg.ha^{-1} de NPK 5:20:10, aplicado à lanço antes do plantio e incorporado com uma última gradagem.

O plantio foi realizado entre os dias 8 e 22 de dezembro de 2003 (Tabela 3), sendo realizada uma irrigação por aspersão em todos os locais logo após o plantio, com exceção de São Francisco de Paula (Apêndice VIII), onde ocorreu uma elevada precipitação pluviométrica. Foram realizadas de 2 a 3 capinas manuais, dependendo da necessidade, no decorrer do experimento.

TABELA 3. Datas de plantio e colheita e período de cultivo de nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) em cada localidade.

Localidade	Data		Tempo de Cultivo
	Plantio	Colheita	
Erechim	08/12/03	22/03/04	106
Caxias do Sul	22/12/03	01/04/04	102
São Francisco de Paula	13/12/03	19/03/04	98
Pelotas	19/12/03	29/03/04	102
Santa Vitória do Palmar	18/12/03	29/03/04	101

A colheita foi realizada entre os dias 19 de março e 1 de abril de 2004, momento em que as plantas encontravam-se em floração plena (Apêndice IX). A parcela experimental foi colhida e as amostras foram desidratadas em secador com ventilação forçada de ar à 35° C até massa constante determinando-se a matéria seca aérea – MSA (g.planta^{-1}) e o rendimento de biomassa seca (Kg.ha^{-1}) considerando-se uma densidade de $33200 \text{ plantas.ha}^{-1}$. Cem gramas de uma amostra homogênea de cada população e cada local foi submetida à extração do óleo essencial pelo método da hidrodestilação por um período de uma hora. O teor de óleo essencial foi calculado pela equação:

$$\text{Teor de óleo (\% v/m)} = \frac{\text{Volume de óleo essencial (mL)}}{\text{massa de planta (g)}} \times 100$$

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5%, sendo os seguintes parâmetros avaliados: rendimento de biomassa (Kg.ha^{-1}) e rendimento de óleo essencial (L.ha^{-1}). Com estes dois parâmetros foi determinada a estabilidade e a adaptabilidade de cada população de poejo utilizando o método proposto por Eberhart & Russel (1996) com auxílio do aplicativo computacional GENES (Cruz, 2001). Esta metodologia baseia-se em uma equação de regressão linear com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = m + \beta_i l_j + \delta_{ij} + \varepsilon_{ij}, \text{ onde:}$$

Y_{ij} - média do genótipo i no ambiente j ;

m - média do genótipo i em todos os ambientes;

β_i - coeficiente de regressão linear, que mede a resposta do i -ésimo genótipo à variação do ambiente;

l_j - índice ambiental;

δ_{ij} - desvio da regressão;

ε_{ij} - erro experimental médio.

No município de Erechim, foi realizada uma avaliação produtiva das nove populações de poejo, no segundo ano de cultivo, sendo a colheita realizada em abril de 2005. Foram avaliados o rendimento de biomassa (Kg.ha^{-1}) e óleo essencial e os

resultados comparados com o primeiro ano de cultivo pela análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey 5%.

A análise química do óleo essencial das nove populações de poejo cultivadas no ano de 2003/2004 foi realizada por cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/MS) de acordo com Echeverrigaray et al. (2003).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Condições edafoclimáticas em cada local de cultivo

Os registros de precipitação pluviométrica e temperatura de cada município, bem como as análises do solo de cada área experimental evidenciaram diferenças.

As distintas características de clima e solo, algumas delas esperadas e próprias de cada região e outras revelando dados específicos do ano agrícola relativo à execução desta investigação, serão apresentadas a seguir. As discussões pertinentes serão realizadas conjuntamente com os dados de produção.

O Rio Grande do Sul apresenta, segundo a classificação de Köppen, dois tipos climáticos, simbolizados como Cfa e Cfb, situando-se na faixa de clima subtropical ou temperado, com precipitações pluviais médias razoavelmente bem distribuídas. O tipo Cfa é dominante no Estado e indica verões quentes e o tipo Cfb aparece nas regiões de maiores altitudes (Campos de Cima da Serra e Serra do Nordeste) indicando verões amenos (Berlato & Cordeiro, 2005).

A precipitação média anual no Estado é aproximadamente 1590 mm, sendo que, na metade norte a precipitação anual média é superior a média do Estado e na

metade sul é inferior. A precipitação média no período de dezembro a março (verão) é de aproximadamente 570 mm ocorrendo variações em decorrência de fenômenos naturais que se convencionou designar El Niño e La Niña (Berlato & Cordeiro, 2005; Porto, 2005).

A precipitação acumulada no período do experimento, de dezembro a abril de 2004, foi distinta entre os locais. As maiores quantidades de chuvas ocorreram em Caxias do Sul (729,5 mm) e Erechim (681,4 mm) e as menores em Santa Vitória do Palmar (448,7 mm) e Pelotas (404,4 mm). As chuvas ficaram abaixo da média do Estado (570 mm) na metade sul do Rio Grande do Sul e acima da média na metade norte, porém mal distribuídas (Figura 1).

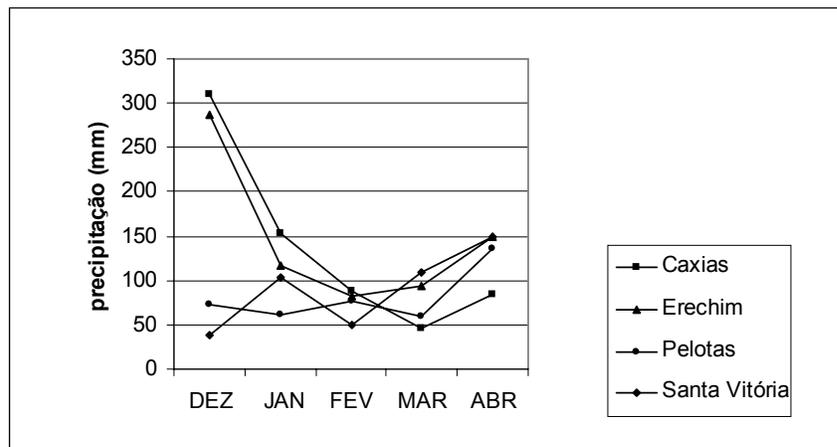


FIGURA 1. Precipitação pluviométrica mensal ocorrida nas cinco localidades onde foram conduzidos os cultivos de poejo (*Cunila galioides* Benth.), 2003/2004.

As temperaturas médias mensais no período do experimento em cada localidade foram distintas, principalmente nas cidades de maior altitude (Figura 2).

Em Caxias do Sul observou-se a menor temperatura média mensal no período (19,71°C), seguido de Erechim (21,28°C).

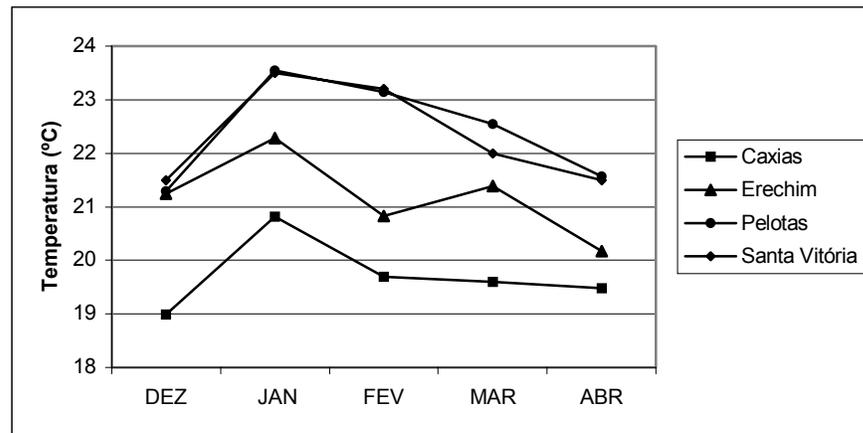


FIGURA 2. Temperatura média mensal em quatro localidades onde foi conduzido o cultivo de poejo (*Cunila galioides* Benth.), 2003/2004.

Pelotas e Santa Vitória do Palmar apresentaram as temperaturas mais elevadas, com pequenas variações mensais entre estas duas cidades, com médias de 22,47°C e 22,34°C, respectivamente. As maiores médias foram registradas no mês de janeiro em todos os locais (Figura 2).

Apesar de não ter sido possível obter o registro dos dados climáticos específicos na localidade de São Francisco de Paula, pode-se considerar, dada a proximidade e as características da região, que a pluviosidade e as temperaturas médias são comparáveis com as de Caxias do Sul.

Com relação aos solos, as diferenças mais marcantes são referentes ao teor de argila, aos macro-nutrientes fósforo (P) e potássio (K) e entre os micro-nutrientes, zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn) (Tabela 4).

TABELA 4. Análise química dos solos nas parcelas experimentais de cada local de cultivo, dezembro de 2003.

Local	Argila %	pH H ₂ O	Índice SMP	P mg . L ⁻¹	K mg . L ⁻¹	M.O. %	Al _{troc.} cmol _c L ⁻¹	Ca _{troc.} cmol _c L ⁻¹	Mg _{troc.} cmol _c L ⁻¹
Erechim	> 56	5,6	6,0	4,0	255	3,3	0,0	8,4	4,4
Caxias do Sul	27	5,8	6,5	28	198	3,4	0,0	7,4	3,7
São F.Paula	11	5,9	5,6	6,6	81	5,3	0,0	12,6	6,9
Pelotas	16	5,8	6,8	15	139	2,4	0,0	4,0	2,1
S ^{ta} V. Palmar	14	5,9	6,2	7,7	141	3,0	0,0	4,3	1,6

Local	Al + H cmol _c L ⁻¹	CTC cmol _c L ⁻¹	% SAT da CTC		RELAÇÕES		
			BASES	Al	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
Erechim	3,6	17,1	79	0,0	1,9	13	7
Caxias do Sul	2,5	14,1	82	0,0	2,0	15	7
São F.Paula	5,1	24,8	79	0,0	1,8	61	33
Pelotas	1,7	8,2	79	0,0	1,9	11	6
S ^{ta} V. Palmar	3,0	9,3	67	0,0	2,7	12	4,4

Local	S mg . L ⁻¹	Zn mg . L ⁻¹	Cu mg . L ⁻¹	B mg . L ⁻¹	Mn mg . L ⁻¹
Erechim	15	3,0	5,9	0,9	52
Caxias do Sul	6,1	13	10,6	0,8	10
São F.Paula	15	0,5	0,1	1,1	2,0
Pelotas	7,5	1,8	0,7	1,0	5
S ^{ta} V. Palmar	8,8	5,4	3,3	0,9	59

A acidez do solo, em todos os locais, está na classe de média acidez considerando-se o pH em água. Para a matéria orgânica do solo apenas São Francisco de Paula apresenta um teor considerado alto (>5); Pelotas, um teor baixo ($\leq 2,5$) e as demais localidades apresentam teores médios (Rheinheimer et al., 2001).

A CTC encontrava-se alta em Erechim e São Francisco de Paula e moderada nas demais localidades. A porcentagem de saturação de bases (V%) é média apenas em Santa Vitória do Palmar sendo alta em Caxias do Sul e considerada boa nas demais localidades (Ferraz de Mello et al., 1983).

Todos os solos apresentavam níveis altos de K, exceto o de São Francisco de Paula que apresentava níveis considerados suficientes. O P apenas em Caxias

apresentou níveis altos, sendo médio em Pelotas e baixo nas demais localidades. Os níveis de Ca estão de médio a alto e os de Mg apresentam-se altos em todos os locais (Siqueira et al., 1989).

As relações Ca/Mg e Mg/K encontravam-se em faixas consideradas de desequilíbrio. A relação Ca/K encontrava-se em equilíbrio somente em Erechim e Caxias do Sul estando desequilibrada nas demais localidades (Tabela 4). Segundo Rheinheimer et al. (2001), a interpretação destas relações entre cátions trocáveis deve ser considerada com cautela, pois ainda carecem de uma maior base científica, não sendo encontrada resposta ao ajuste da relação quando os valores absolutos dos nutrientes estão acima dos níveis de suficiência.

Os teores de Cu e Mn são suficientes em praticamente todas as localidades. Apenas o teor de Cu em São Francisco de Paula encontra-se em níveis baixos (Siqueira et al., 1989). Cabe ressaltar os elevados níveis de Cu e Zn em Caxias do Sul e de Mn em Erechim e Santa Vitória do Palmar. O elevado teor de Cu em Caxias do Sul pode ser atribuído ao fato da área experimental situar-se na antiga Estação Experimental de Viticultura do Estado, onde a aplicação de fungicidas à base de Cu era constante. Com relação ao Mn, solos com características argilosas ou mal drenados, como ocorre em Erechim e Santa Vitória, respectivamente, podem conter maiores teores deste elemento (Ferraz de Mello et al., 1983).

5.3.2. Produção de biomassa e óleos essenciais

A Tabela 5 mostra a análise de variância para o rendimento de biomassa relativo a produção de matéria seca de parte aérea e óleo essencial onde se

observam diferenças estatísticas entre as populações e os locais e a presença de interação altamente significativa entre estes dois fatores.

TABELA 5. Resumo da análise de variância (ANOVA) para rendimento de matéria seca e óleo essencial para as populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivadas em cinco localidades do RS, 2003/2004.

Causas da variação	GL	RMS		RO	
		QM	F	QM	F
POP	8	136742	36,0**	49,92	147,9**
Local	4	1115968	293,8**	92,43	237,84**
POP* Local	32	45669,9	12,02**	9,95	29,48**
Erro	90	3798,12		0,338	
Total	134				
CV%		22,87		27,54	

GL- Graus de liberdade; POP- população; CV – coeficiente de variação; RMS – rendimento de matéria seca (Kg.ha⁻¹); RO – Rendimento de óleo (L.ha⁻¹); ** significativo a 1%.

Na Tabela 6 encontram-se os valores médios para rendimento de biomassa para as nove populações de poejo e os locais de cultivo.

Em Erechim os maiores valores foram observados para as populações Capão Alto (QT ocimeno) e Muitos Capões (QT citral) com 978 e 954 Kg.ha⁻¹, respectivamente, sendo superiores às demais populações e não diferindo estatisticamente entre si. A população André da Rocha (QT citral) produziu 781 Kg.ha⁻¹ e foi estatisticamente inferior as populações Capão Alto e Muitos Capões e superior as demais. As populações Lages, São Joaquim, Santa Lúcia e São Joaquim 2 (QT menteno) mostraram valores intermediários variando entre 498 e 547 Kg.ha⁻¹, sendo superiores as populações Bom Jardim da Serra (325 Kg.ha⁻¹) e Cambará (148 Kg.ha⁻¹), ambas do grupo ocimeno.

TABELA 6. Rendimento estimado de biomassa seca ($\text{Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) de nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivadas em cinco localidades do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

POP	QT	LOCAL					Média
		Erechim	Caxias do Sul	S. F. de Paula	Pelotas	S. V. do Palmar	
AR	citral	781,1 b A	520,5 a B	255,9 a C	149,6 a C	123,3 a C	366,1 a
SL	menteno	546,9 c A	294,5 bc B	232,1 a BC	99,1 a C	112,3 a C	257,0 b
BJ	ocimeno	325,7 d A	172,0 bc B	180,1 a B	70,8 a B	45,6 a B	158,8 c
LA	menteno	498,2 c A	196,6 bc B	185,9 a B	110,0 a B	63,7 a B	210,9 bc
CAM	ocimeno	148,8 e BC	331,7 b A	255,0 a AB	94,9 a C	91,0 a C	184,3 bc
CA	ocimeno	978,6 a A	513,4 a B	288,6 a C	159,0 a CD	76,8 a D	403,3 a
SJ	menteno	538,9 c A	151,0 c B	178,7 a B	130,0 a B	75,0 a B	214,7 bc
MC	citral	954,6 a A	579,1 a B	200,8 a C	138,3 a C	144,1 a C	402,8 a
SJ2	menteno	547,4 c A	198,4 bc BC	220,8 a B	104,2 a BC	62,5 a C	226,7 bc
Média		591,1 A	328,6 B	222,0 C	117,35 D	87,9 D	269,43

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. AR- André da Rocha; SL- Santa Lúcia; BJ- Bom Jardim; LA- Lages; CAM- Cambará; CA- Capão Alto; SJ- São Joaquim; MC- Muitos Capões; LV- Lagoa Vermelha.

Em Caxias do Sul o comportamento foi em parte distinto, pois, além das populações Capão Alto ($579 \text{ Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) e Muitos Capões ($579 \text{ Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$), a população André da Rocha ($520 \text{ Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) foi uma das mais produtivas. Nas demais localidades não foram observadas diferenças estatísticas significativas para o rendimento de biomassa entre as populações.

Entre os locais, as plantas cultivadas em Erechim apresentaram os maiores valores de rendimento de biomassa para todas as populações, com exceção da população Cambará. Esta população apresentou um melhor desempenho em Caxias do Sul e São Francisco de Paula com valores de 331 e 255 $\text{Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$,

respectivamente. As populações Bom Jardim da Serra, Lages e São Joaquim não mostram diferença estatística entre Caxias do Sul, São Francisco de Paula, Pelotas e Santa Vitória do Palmar.

As populações André da Rocha, Capão Alto e Muitos Capões cultivadas em Caxias mostraram-se superiores do que quando cultivadas em São Francisco de Paula, Pelotas e Santa Vitória do Palmar. Já a população Santa Lúcia teve o mesmo comportamento em Caxias do Sul e São Francisco de Paula, e apresentou os menores valores quando cultivada em Pelotas e Santa Vitória do Palmar, porém sem diferença estatística de São Francisco de Paula.

A população São Joaquim 2 não apresentou diferença estatística quando cultivada em Caxias do Sul, Pelotas e São Francisco de Paula, sendo apenas esta localidade superior a Santa Vitória do Palmar.

Na produção média das populações em todos os locais, destacaram-se como as mais produtivas André da Rocha, Capão Alto e Muitos Capões.

Vários autores relatam que o tipo e a fertilidade do solo, diferenças de temperatura e pluviosidade entre regiões de cultivo influenciam na produção determinando a adaptabilidade a cada local de cultivo (Alquezar, 2003; Zhang, 2003).

A precipitação pluviométrica ocorrida logo após o plantio em dezembro de 2003 em Caxias do Sul e Erechim com chuvas de 287 e 310 mm, respectivamente, e nas primeiras semanas do mês de janeiro (Figura 1) foram determinantes para um melhor desenvolvimento inicial dos cultivos culminando com uma maior produção das plantas. Em Santa Vitória do Palmar e Pelotas, além de uma menor precipitação no período, as chuvas foram escassas logo após o plantio causando uma maior porcentagem de morte de plantas e um baixo desenvolvimento, mesmo com a

utilização de irrigação após o plantio e nos períodos mais críticos de estresse hídrico. A porcentagem de plantas perdidas em cada localidade é demonstrada na tabela 7.

TABELA 7. Plantas de poejo (*Cunila galioides* Benth.) perdidas (%) em cada área experimental, em cada localidade, trinta dias após o plantio. Janeiro de 2004.

Erechim	Caxias do Sul	São Francisco de Paula	Pelotas	Santa Vitória do Palmar
25,34 %	27,77	28,81 %	56,0 %	51,38 %

Outro fator a ser considerado, porém não sendo determinante para a baixa produção das plantas em Pelotas e Santa Vitória do Palmar, foram as temperaturas mais elevadas nestas localidades. Os locais onde as populações de poejo encontram-se naturalmente são de média a altas altitudes com temperaturas mais amenas (Echeverrigaray et al., 2003) e semelhantes às encontradas nas regiões de Erechim, Caxias do Sul e São Francisco de Paula.

Em virtude do déficit hídrico ser a principal causa do mau desempenho das populações em Pelotas e Santa Vitória do Palmar, só é possível realizar comparações com relação aos aspectos edafológicos nas três localidades onde as condições climáticas foram mais semelhantes.

Entre estas três localidades a produção média foi mais elevada em Erechim. Entre Caxias do Sul e São Francisco de Paula, na maioria dos casos, a produção foi estatisticamente idêntica, com exceção das populações André da Rocha, Capão Alto e Muitos Capões que cultivadas em Caxias do Sul foram superiores (Tabela 6). No entanto, na média das populações, as maiores produções seguiram, de maneira

geral, a ordem Erechim, Caxias do Sul e São Francisco de Paula, sendo os valores estatisticamente distintos.

Na localidade de Erechim, com a adubação de base realizada no experimento (500 Kg.ha^{-1} de NPK 5:20:10), a fertilidade do solo pode ter ficado mais equilibrada que a fertilidade do solo das outras duas localidades, já que, este solo apresentava altos teores de K e baixos de P, antes da adubação de base realizada. Também a relação Ca/K neste solo apresentava-se equilibrada (Tabela 4). Esta melhor adequação da fertilidade do solo pode ter proporcionado uma melhor resposta produtiva da maioria das populações. Ainda, esta localidade, comparada com as demais, apresenta um elevado teor de argila no solo (Tabela 4).

Em contrapartida, o alto teor de P encontrado no solo de Caxias do Sul (28 mg. L^{-1}), associado a adubação de base realizada, idêntica em todos os locais, a qual adicionou aproximadamente 50 mg. L^{-1} de P ao solo, pode ter prejudicado o desempenho da maioria das populações quando comparadas com as produzidas em Erechim. Vários autores trabalhando com plantas medicinais demonstram a resposta quadrática de várias espécies à adubação fosfatada, mostrando queda da produção de biomassa em função de doses elevadas deste elemento (Sousa et al., 2001; Freitas et al., 2004; Rodrigues et al., 2004).

A menor produção de biomassa média das populações foi observada em São Francisco de Paula. Este município situa-se em uma região de ocorrência natural de poejo e teoricamente é um local ideal, em termos de solo e clima, para a produção desta espécie. Cabe ressaltar que o solo em São Francisco de Paula apresenta o menor teor de K entre todos os solos analisados, sendo também o mais

desequilibrado nas relações Ca/K e Mg/K devido aos elevados teores de Ca e Mg (Tabela 4).

Os resultados obtidos sugerem que a fertilidade dos solos em Caxias do Sul e São Francisco de Paula pode não ser a mais adequada para um melhor desempenho das populações de poejo. Os teores de P, Ca e Mg encontrados nestas duas localidades, são bastante superiores aos encontrados nos solos onde estas populações ocorrem naturalmente, que são ácidos e pobres em relação a estes nutrientes (Echeverrigaray et al., 2003).

Com relação ao teor de óleo essencial foram observadas grandes diferenças entre as populações e quimiotipos, concordando com os resultados obtidos por Fracaro et al. (2002). Além destas diferenças uma grande variação entre os locais de cultivo foi observada (Tabela 8).

TABELA 8. Teor de óleo essencial (% v/m) das nove populações de poejo cultivadas em cinco regiões agroclimáticas do Rio Grande do Sul.

POP	QT	LOCAL					Média
		Erechim	Caxias	S. F. de Paula	Pelotas	S. V. do Palmar	
AR	citral	1,74	1,54	1,35	1,38	1,08	1,41
SL	menteno	1,15	1,08	1,23	1,04	1,07	1,11
BJ	ocimeno	0,24	0,18	0,24	0,24	0,32	0,24
LA	menteno	0,32	0,29	0,37	0,31	0,26	0,31
CAM	ocimeno	0,24	0,09	0,13	0,12	0,08	0,13
CA	ocimeno	0,23	0,39	0,32	0,65	0,28	0,37
SJ	menteno	0,84	0,72	0,91	0,82	0,46	0,75
MC	citral	1,11	1,01	0,85	0,84	0,61	0,88
SJ2	menteno	1,11	0,79	0,81	0,68	0,45	0,76
Média		0,77	0,67	0,69	0,72	0,51	

AR- André da Rocha; SL- Santa Lúcia; BJ- Bom Jardim; LA- Lages; CAM- Cambará; CA- Capão Alto; SJ- São Joaquim; MC- Muitos Capões; SJ2- São Joaquim 2.

As populações que apresentaram os maiores teores médios de óleo essencial foram André da Rocha e Santa Lúcia, independentemente do local. Por outro lado em Santa Vitória do Palmar obteve-se os menores teores médios de óleo, quando comparados com as demais localidades.

Algumas populações mantiveram o teor de óleo essencial praticamente estável em todos os locais como, por exemplo, as populações Lages e Santa Lúcia. Outras populações diminuíram o teor de óleo essencial nas localidades onde foram observadas também queda na produção de biomassa. A população André da Rocha apresentou um maior teor de óleo em Erechim (1,74%) e o teor mais baixo em Santa Vitória do Palmar (1,08 %), que foram os locais de melhor e pior produção de biomassa respectivamente (Tabela 6).

A população Cambará apresentou o maior teor de óleo essencial (0,24%) em Erechim, que pode ser considerado um ambiente desfavorável para a produção de biomassa desta população, sendo bastante superior as demais localidades que apresentaram um teor médio em torno de 0,1 % (Tabela 6).

Neste sentido, Fuente et al. (2003) trabalhando com duas variedades de coentro, uma delas com a característica de produzir elevados teores de óleo essencial e outra com baixa produção de óleo e elevada produção de frutos, cultivadas em dois ambientes, um considerado favorável (maior fertilidade do solo) e outro desfavorável (solo degradado), verificaram diferenças entre elas. A variedade produtora de óleo essencial incrementou sua produção no ambiente desfavorável. Os autores atribuíram ao fato de que plantas que priorizam a produção de metabólitos secundários aumentam sua produção sobre condições desfavoráveis, ocorrendo o inverso em plantas que priorizam a produção de metabólitos primários. Entretanto,

este fato não foi observado na população André da Rocha que pode ser considerada uma população com elevada produção de óleo essencial.

O rendimento de óleo essencial estimado ($L \cdot ha^{-1}$) é apresentado na Tabela 9. Na localidade de Erechim foi onde o poejo obteve as maiores médias de rendimento de óleo essencial seguido pelas de Caxias do Sul. As populações André da Rocha e Muitos Capões, cultivadas em Erechim, apresentaram os melhores rendimentos de óleo produzindo 13,5 e 10,5 $L \cdot ha^{-1}$, respectivamente. Pauletti et al. (2003), cultivando nove populações de poejo em Caxias do Sul e Campestre da Serra no Rio Grande do Sul, em 2002/2003, também constataram que estas populações são as mais produtivas em termos de óleo essencial.

TABELA 9. Rendimento de óleo essencial estimado ($L \cdot ha^{-1}$) nas nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivadas em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

POP	QT	LOCAL					Média
		Erechim	Caxias do Sul	S. F. de Paula	Pelotas	S. V. do Palmar	
AR	citral	13,59 a A	8,01 a B	3,45 a C	2,06 a D	1,33 a D	5,69 a
SL	menteno	6,29 c A	3,18 c B	2,85 ab B	1,03 ab C	1,20 a C	2,91 c
BJ	ocimeno	0,78 ef A	0,31 e A	0,43 c A	0,17 b A	0,14 a A	0,36 g
LA	Menteno	1,59 ef A	0,57 de AB	0,68 c AB	0,34 b AB	0,16 a B	0,67 fg
CAM	ocimeno	0,36 f A	0,30 e A	0,33 c A	0,11 b A	0,073 a A	0,23 g
CA	ocimeno	2,25 e A	2,00 cd AB	0,93 bc BC	1,03 ab AB	0,21 a C	1,28 ef
SJ	menteno	4,40 d A	1,08 de B	1,62 bc B	1,06 ab B	0,34 a B	1,73 de
MC	citral	10,59 b A	5,84 b B	1,71 bc C	1,16 ab C	0,86 a C	4,03 b
SJ2	menteno	6,07 c A	1,56 d BC	1,78 bc B	0,70 ab BC	0,28 a C	2,08 d
	Média	5,11 A	2,54 B	1,53 C	0,85 D	0,51 D	

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. AR- André da Rocha; SL- Santa Lúcia; BJ- Bom Jardim; LA- Lages; CAM- Cambará; CA- Capão Alto; SJ- São Joaquim; MC- Muitos Capões; SJ2- São Joaquim 2.

5.3.3. Estabilidade e adaptabilidade das populações de poejo

Nas tabelas 10 e 11 encontram-se as estimativas dos parâmetros de estabilidade e adaptabilidade para rendimento de biomassa e óleo essencial nas nove populações de poejo.

Segundo Correia da Silva (1995), em coleções de genótipos geralmente se encontram variados padrões de adaptabilidade ao ambiente que se distinguem por diferentes comportamentos médios e sensibilidade de resposta à variação ambiental. Considera-se um genótipo teoricamente ideal aquele que apresenta uma resposta média alta, uma sensibilidade de resposta baixa sob condições desfavoráveis e elevada sob condições favoráveis.

Para Eberhart & Russel (1966) citados por Cruz & Regazzi (1997), o genótipo ideal é aquele que apresenta alta produção média, ampla adaptabilidade ($\beta = 1$) e alta estabilidade (δ - não significativo).

Com relação à produção de biomassa de poejo as maiores médias foram das populações André da Rocha, Capão Alto e Muitos Capões (Tabela 10), no entanto, estas populações apresentaram adaptabilidade específica a ambientes favoráveis ($\beta > 1$) e destas três, apenas a população André da Rocha (Figura 3A) e Capão Alto apresentaram estabilidade alta (δ - não significativo).

Santa Lúcia (Figura 3B) e São Joaquim 2 foram às populações que apresentaram ampla adaptabilidade e alta estabilidade na produção de biomassa, porém suas médias não foram elevadas, ficando abaixo da média geral das populações.

TABELA 10. Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade segundo método proposto por Eberhart e Russel (1966), para rendimento de biomassa ($\text{Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$), em populações de poejo cultivadas em cinco regiões agroclimáticas do RS, 2003/2004.

População	Média (m)	β (adaptabilidade)	δ (estabilidade)	R^2
AR	366 a	1,36**	1459,4 ^{ns}	97.39
SL	257 b	0,88 ^{ns}	-821,2 ^{ns}	98.98
BJ	159 c	0,52**	-319,2 ^{ns}	94.20
LA	211 bc	0,81*	488,8 ^{ns}	95.43
CAM	184 bc	0,14**	12427,1**	8.10
CA	403 a	1,77**	-715,2 ^{ns}	99.68
SJ	214 bc	0,85 ^{ns}	4659,7**	87.03
MC	402 a	1,72**	6271,2**	95.60
SJ2	226 bc	0,91 ^{ns}	1791,9 ^{ns}	93.70
Média Geral	269			

** significativo a 1% e *significativo a 5% de probabilidade pelo teste t (β) e F (δ); ^{ns} não significativo. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. AR- André da Rocha; SL- Santa Lúcia; BJ- Bom Jardim; LA- Lages; CAM- Cambará; CA- Capão Alto; SJ- São Joaquim; MC- Muitos Capões; SJ2- São Joaquim 2.

TABELA 11. Parâmetros de estabilidade e adaptabilidade segundo método proposto por Eberhart e Russel (1966), para rendimento de óleo essencial ($\text{L} \cdot \text{ha}^{-1}$), em populações de poejo cultivadas em cinco regiões agroclimáticas do RS, 2003/2004.

População	Média (m)	β (adaptabilidade)	δ (estabilidade)	R^2
AR	5,69 a	2,75**	0,50**	98,22
SL	2,91 c	1,12 ^{ns}	0,09 ^{ns}	96,53
BJ	0,36 g	0,13*	-0,10 ^{ns}	87,08
LA	0,67 g	0,28*	-0,08 ^{ns}	92,49
CAM	0,23 ef	0,05*	-0,10 ^{ns}	60,58
CA	1,28 de	0,39*	0,09 ^{ns}	77,89
SJ	1,70 ef	0,79*	0,32*	86,84
MC	4,03 b	2,23**	0,54**	97,17
SJ2	2,08 d	1,21*	0,35**	93,41
Média Geral	2,10			

** significativo a 1% e *significativo a 5% de probabilidade pelo teste t (β) e F (δ); ^{ns} não significativo. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. AR- André da Rocha; SL- Santa Lúcia; BJ- Bom Jardim; LA- Lages; CAM- Cambará; CA- Capão Alto; SJ- São Joaquim; MC- Muitos Capões; SJ2- São Joaquim 2.

Para a produção de óleo essencial as maiores médias foram das populações André da Rocha (Figura 4A) e Muitos Capões, mas as respostas destes materiais, quanto aos parâmetros de adaptabilidade de estabilidade, não foram favoráveis. A população Santa Lúcia foi a única que apresentou ampla adaptabilidade e alta estabilidade para os dois parâmetros (Figuras 3B e 4B).

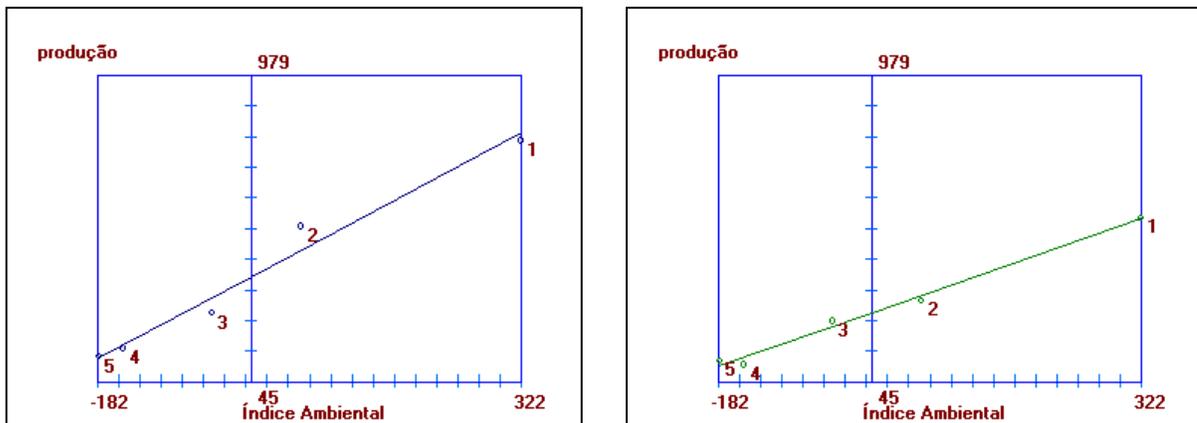


FIGURA 3. Representação gráfica para adaptabilidade e estabilidade para produção de biomassa. (A) População André da Rocha mostrando adaptabilidade específica a ambientes favoráveis. (B) População Santa Lúcia mostrando ampla adaptabilidade e alta estabilidade.

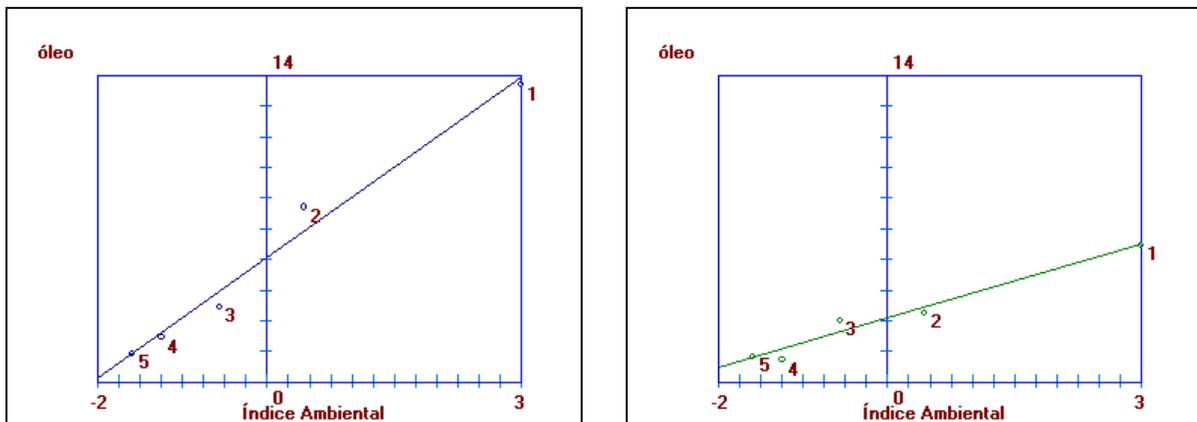


FIGURA 4. Representação gráfica para adaptabilidade e estabilidade para produção de óleo essencial. (A). População André da Rocha mostrando adaptabilidade específica a ambientes favoráveis (B) População Santa Lúcia mostrando ampla adaptabilidade e alta estabilidade.

5.3.4. Produção de poejo no segundo ano de cultivo

Na localidade de Erechim, onde a maioria das populações teve um bom desenvolvimento, foi realizada uma avaliação produtiva no segundo ano de cultivo, visando avaliar o comportamento das populações após a primeira colheita.

A precipitação pluviométrica acumulada em Erechim durante o período após a primeira colheita (maio de 2004 a abril de 2005) foi de 1277 mm. Na Figura 5 é apresentada a precipitação mensal onde observa-se o baixo volume de chuvas ocorrido nos meses de dezembro e fevereiro. Neste ano agrícola a precipitação ficou bastante abaixo da precipitação média anual (1590 mm) e da precipitação média no período de dezembro a março (560 mm) no Estado (Berlato & Carneiro, 2005). A precipitação no período do verão foi de 348 mm, sendo praticamente a metade do ocorrido no ano de 2003/2004, apesar de ser um ano de ocorrência de El niño que caracteriza-se pelo verão chuvoso (Porto, 2005).

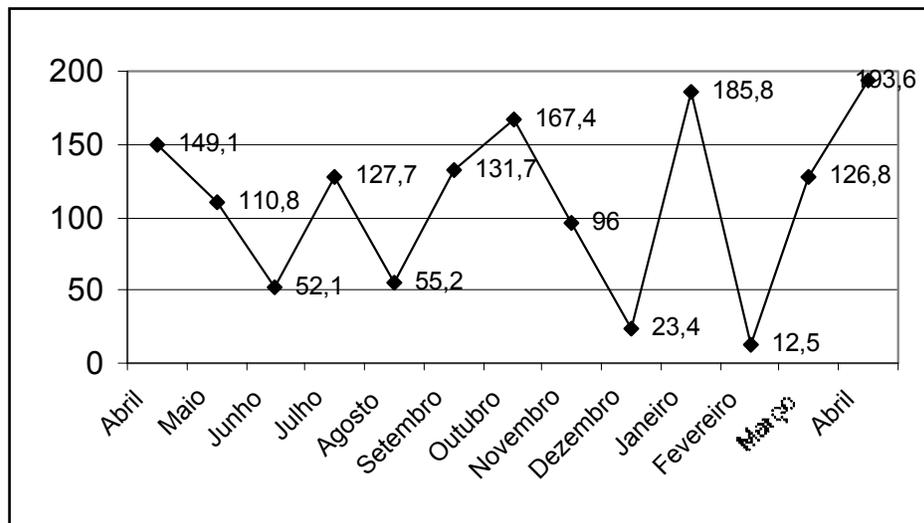


FIGURA 5. Precipitação pluviométrica média mensal ocorrida no município de Erechim durante o período de maio de 2004 a abril de 2005.

Na tabela 12 encontra-se o resumo da análise de variância para rendimento de biomassa comparando as populações nos dois anos de cultivo onde pode-se observar a presença de interação entre ano de cultivo e população.

TABELA 12. Resumo da análise de variância (ANOVA) para rendimento de biomassa seca das nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) colhidas no primeiro e segundo ano de cultivo, 2004/2005.

Causas da Variação	GL	RMS (Kg.ha ⁻¹)	
		QM	F
POP	8	1266665,8	19,26**
ANO	1	1975905,5	30,05**
POP * ANO	8	491079,81	7,46**
Erro	36	65750,41	
Total	53		
CV (%)			32,84

CV-coeficiente de variação; GL – graus de liberdade; POP – População.

Na Tabela 13 está a estimativa da produção por hectare no primeiro e segundo anos de cultivo, onde se observa que algumas populações apresentaram uma produção bastante superior no segundo ano.

As três populações que mais se destacaram no segundo ano foram André da Rocha, que produziu 2388 Kg.ha⁻¹; Capão Alto, que produziu 1506 Kg.ha⁻¹, e Santa Lúcia, que produziu 1398 kg.ha⁻¹ de biomassa seca, sendo a produção de 67%, 61% e 35% superior, de forma significativa, em comparação ao primeiro ano, respectivamente. As demais populações não apresentaram diferenças estatísticas entre os dois anos, muitas delas mantendo os níveis produtivos. A população Cambará que teve a pior produção de biomassa no primeiro ano, diminui ainda mais sua produção no segundo ano, embora sem diferença estatística.

TABELA 13. Produção de biomassa ($\text{Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e óleo essencial ($\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$) em nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) em dois anos de cultivo, Erechim-RS.

POP	QT	2004		2005	
		MS	Óleo	MS	Óleo*
AR	citral	781,1 a B	13,59	2389,88 a A	41,56
SL	menteno	546,6 ab B	6,29	1398,71 bc A	16,08
BJ	ocimeno	325,7 ab A	0,78	456,16 de A	1,09
LA	menteno	498,2 ab A	1,59	662,00 de A	2,11
CAM	ocimeno	148,8 b A	0,36	91,96 e A	0,22
CA	ocimeno	978,6 a B	2,25	1506,94 b A	3,46
SJ	menteno	538,9 ab A	4,40	726,74 cde A	6,10
MC	citral	954,6 a A	10,59	911,67 bcd A	10,11
SJ2	menteno	547,4 ab A	6,07	528,54 de A	5,86

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%; * Estimado no teor de óleo de 2004. AR- André da Rocha; SL- Santa Lúcia; BJ- Bom Jardim; LA- Lages; CAM- Cambará; CA- Capão Alto; SJ- São Joaquim; MC- Muitos Capões; SJ2- São Joaquim 2.

As populações Capão Alto e Muitos Capões, que foram as mais produtivas no primeiro ano de cultivo, no segundo ano, apresentam uma resposta distinta. Capão Alto aumentou significativamente sua produção e Muitos Capões manteve-se estável, indicando que esta população já no primeiro ano atinge o pico máximo de produção.

Alquezar (2003), trabalhando com diferentes espécies aromáticas semiperenes da família Lamiaceae, observou que algumas iniciam sua produção no primeiro ano enquanto outras apresentam uma produção mais significativa a partir do segundo ano de cultivo.

A maior produção de algumas populações no segundo ano, onde a precipitação pluviométrica foi menor do que a ocorrida no primeiro ano, pode ser explicada pelo fato da planta encontrar-se já estabelecida, com um sistema radicial mais vigoroso, proporcionando uma maior resistência ao estresse hídrico.

5.3.5. Composição química do óleo essencial

As nove populações de poejo utilizadas no estudo são classificadas, de acordo com os componentes majoritários presentes no óleo essencial, em três quimiotipos (QT). As populações André da Rocha e Muitos Capões pertencem ao QT-citral, Cambará, Capão Alto e Bom Jardim da Serra pertencem ao QT-ocimeno e as populações Santa Lúcia, São Joaquim, São Joaquim 2 e Lages ao QT-menteno (Echeverrigaray et al., 2003; Fracaro et al., 2005).

A concentração média dos componentes químicos das nove populações cultivadas nas cinco localidades do Rio Grande do Sul e o perfil cromatográfico do óleo essencial de cada população podem ser observados na Tabela 14 e no apêndice XIX. Foram identificados 26 diferentes compostos químicos, incluindo monoterpenos oxigenados e não oxigenados e sesquiterpenos. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Echeverrigaray et al. (2003), trabalhando com as mesmas populações de poejo.

Segundo Bordignon (1997) as diversas espécies do gênero *Cunila*, *C. incisa*, *C. angustifolia*, *C. menthoides*, *C. platyphylla*, *C. fasciculata* e *C. microcephala*, caracterizam-se pela predominância de monoterpenos, geralmente apresentando um componente majoritário.

Por meio da análise química do óleo essencial pôde-se observar que, na maioria das populações, a composição química manteve-se estável, com modificações na concentração de alguns componentes dependendo da população e do local de cultivo.

Nas populações do QT-ocimeno e em uma população do QT-citral (Muitos Capões) observou-se uma menor concentração dos monoterpenos trans β -ocimeno e

neral + geranial (citral), os quais caracterizam estes quimiotipos. Fracaro et al. (2002) e Echeverrigaray et al. (2003) encontraram valores mais elevados destes compostos, com aproximadamente 70 % de citral na população Muitos Capões e valores entre 10 e 46 % de trans β -ocimeno nas populações do QT- ocimeno.

Na população Muitos Capões a concentração média de citral foi de 4,76 % (Tabela 14) sendo observada uma grande variação conforme o ambiente. A maior concentração foi observada em Erechim com 8,10% e a menor em Santa Vitória do Palmar (1,24%) (Apêndice XVII).

Nas populações do QT-ocimeno as concentrações foram extremamente baixas em todos os locais, variando de traços deste composto até um máximo de 2,46%. Na população Bom Jardim o composto trans β -ocimeno não foi detectado (Tabela 14).

Nas populações onde ocorreu uma diminuição na concentração de monoterpenos, observou-se uma maior concentração de sesquiterpenos como óxido de cariofileno, espatulenol, α -cadinol e ledeno (Tabela 14). Estes compostos não foram identificados, ou as quantidades observadas foram insignificantes, nos estudos de Fracaro et al. (2002) e Echeverrigaray et al. (2003).

Os monoterpenos e sesquiterpenos são derivados biossinteticamente, via a rota clássica do mevalonato, de um intermediário comum, o isopentenil pirofosfato (IPP)(C5) (Denis & Turpin, 1992). Atualmente, considera-se que a biossíntese e a acumulação de monoterpenos em plantas, principalmente em Lamiaceae, seja realizada exclusivamente nos plastídios de células secretoras especializadas, por uma rota independente do mevalonato, a partir do ácido pirúvico (McCaskill & Croteau, 1995; Eisenreich et al., 1997).

Rhodes (1994) considera que a competição pelo precursor comum dos terpenóides (IPP), realizada por enzimas específicas, monoterpeneo ciclases, para a formação de monoterpenos, e preniltransferases, para a produção de sesquiterpenos, não seja o maior fator de controle na produção de determinados tipos de terpenóides, devido ao fato destes compostos serem formados por mecanismos distintos.

No entanto, McConkey et al. (2000) mostraram em *Mentha piperita* que o IPP, tanto para a produção de mono, quanto sesquiterpenos pode ser sintetizado exclusivamente dentro do plastídio com subsequente partição entre a biossíntese plastidial de monoterpenos e a biossíntese citoplasmática de sesquiterpenos. Neste caso a maior ou menor quantidade de mono ou sesquiterpenos produzida é provavelmente determinada através da competição entre enzimas pelo pool de IPP plastidial.

Neste sentido, Endt et al. (2002) relatam que a transcrição de genes que codificam enzimas específicas para produção de um determinado metabólito secundário parece ser o maior mecanismo de controle da rota biossintética sendo a ação destes genes dependente de fatores ambientais.

Segundo Harbone (1997) os sesquiterpenos são a principal classe de metabolitos secundários que apresentam inúmeras funções ecológicas de defesa da planta, sendo a concentração destes compostos, incrementada em função de estresse ambiental.

O aumento da concentração de sesquiterpenos e a diminuição de monoterpenos foram observadas em todos os locais nas populações Muitos Capões e nas três representantes do quimiotipo ocimeno. Este aumento pode ser atribuído ao estresse ambiental já que houve deficiência hídrica em todas as localidades.

Diferentemente do observado nestas populações de poejo, Simon et al. (1992) constataram que o estresse hídrico alterou a composição química do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* – Lamiaceae) ocorrendo uma diminuição na percentagem de sesquiterpenos. Tal discrepância pode ser atribuída a uma resposta distinta ao ambiente de acordo com cada população ou espécie vegetal.

Por outro lado, algumas populações mantiveram seu perfil químico praticamente inalterado como a população André da Rocha (QT- citral) e todas as populações do QT-menteno. André da Rocha manteve valores de neral e geranial praticamente constantes, em todos os locais, com média de $31,6 \pm 0,94\%$ e $46,0 \pm 0,64\%$, respectivamente (Tabela 14). Lages (QT- menteno), manteve sua composição química semelhante em todos os locais com elevados teores de borneol ($29,4 \pm 1,58$) (Tabela 14), que, segundo Echeverrigaray et al. (2003), é uma característica desta população. Entre as populações do QT-menteno, Lages destacou-se por apresentar o composto canfeno em altas concentrações ($10 \pm 1,99\%$) com pequena variação entre os locais.

Loziene e Venskutonis (2005) trabalhando com cinco quimiotipos de *Thymus pulegioides* (Lamiaceae), baseado na estabilidade da composição do óleo essencial frente a mudanças nas condições ambientais, observaram que alguns quimiotipos são fortemente afetados pelas condições ambientais, enquanto outros mantêm sua composição química estável. Os autores atribuem este fato a uma interação de fatores genéticos e ambientais.

O limoneno também foi um componente químico encontrado em praticamente todas as populações, em distintas concentrações, sendo mais elevado nas

populações do QT-menteno. Nas populações São Joaquim e São Joaquim 2 (Apêndices XVI e XVIII), em particular, observou-se uma queda acentuada na concentração deste composto, quando cultivadas em Pelotas e Santa Vitória do Palmar, locais nos quais as plantas sofreram maior estresse hídrico.

Shahi et al. (1999), cultivando *Mentha piperita* (Lamiaceae) em diferentes regiões da Índia, observaram uma redução na concentração de limoneno em baixas altitudes e maiores fotoperíodos considerando este composto químico como sendo fortemente influenciado pelas condições ambientais. Pelotas e Santa Vitória do Palmar, além de baixa altitude, apresentam um maior fotoperíodo, quando comparadas com Caxias do Sul, São Francisco de Paula e Erechim.

No estudo realizado no capítulo II, onde as plantas foram submetidas a modificações na concentração de alguns nutrientes pela calagem, ocorreram alterações na concentração de alguns componentes químicos, diminuindo os teores de citral e limoneno nas populações André da Rocha e Santa Lúcia, respectivamente. Os compostos químicos analisados na população Bom Jardim da Serra, não sofreram modificações com a calagem. Já, o estresse por alumínio (capítulo III), não alterou a concentração dos compostos químicos, dos óleos essenciais analisados, nas mesmas populações. Estes fatos demonstram que a modificação na composição química do óleo essencial de poejo, além do tipo de estresse, depende da população ou quimiotipo utilizado, decorrendo de uma interação entre fatores genéticos e ambientais, como observado por Loziene e Venskutonis (2005).

TABELA 14. Concentração (média± DP) dos componentes químicos identificados em nove populações de poejo (*Cunila galioides* Benth.) cultivadas em cinco regiões agroecológicas no Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Nº	Composto Químico	TR	AR	MC	BJ	CA	CAM	LA	SL	SJ	SJ2
1	α- pineno	5,39	0,11±0,02	1,05±0,73	-	1,47±0,66	1,59±0,43	4,76±1,00	0,60±0,22	0,31±0,15	2,29±0,08
2	Canfeno	7,16	-	-	-	1,37±0,00	2,84±2,16	10,3±1,99	-	-	-
3	β-pineno	9,28	0,36±0,05	0,97±0,50	-	1,51±1,00	0,45±0,14	1,92±0,38	0,48±0,16	0,68±0,06	0,48±0,12
4	Sabineno	10,16	0,19±0,02	1,20±0,51	-	2,56±1,88	1,12±0,33	0,96±0,19	0,34±0,11	0,60±0,06	0,44±0,13
5	Mirceno	12,85	0,10±0,05	0,61±0,37	-	0,28±0,08	0,81±0,38	0,40±0,11	0,46±0,18	0,48±0,06	0,40±0,16
6	Limoneno	14,35	0,19±0,06	3,57±1,50	-	1,53±0,97	0,57±0,49	5,47±0,63	14,0±4,44	13,7±8,98	9,85±8,18
7	1,8 cineol	14,57	0,24±0,02	5,26±3,24	-	-	-	-	-	-	-
8	γ-terpineno	17,38	0,25±0,11	1,65±0,70	-	0,56±0,14	4,39±5,54	0,06±0,0	0,81±0,38	0,60±0,19	-
9	Trans β- ocimeno	18,06	0,08±0,03	1,69±1,01	-	0,52±0,57	1,63±0,90	0,44±0,12	0,55±0,20	0,07±0,06	-
10	ρ-cimeno	18,64	-	-	-	0,63±0,12	0,55±0,20	0,31±0,08	0,12±0,02	-	-
11	Octen-3-ol	23,45	0,16±0,07	0,31±0,15	0,48±0,37	1,87±0,76	1,57±0,90	0,07±0,01	0,42±0,28	0,47±0,20	-
12	Linalol	26,60	1,86±0,27	1,98±0,80	0,59±0,31	1,94±0,68	1,70±0,83	2,73±0,53	1,60±0,46	1,27±0,42	1,24±0,37
13	Trans -2,8- mentadieno	31,79	-	-	-	-	2,42±2,11	1,52±0,27	1,29±0,41	1,89±0,75	2,69±1,21
14	1,3,8 –mentatrieno	33,41	-	-	-	-	0,92±1,05	3,97±0,23	18,1±2,76	16,8±3,44	17,4±2,63
15	Neral	35,36	31,6±0,94	1,77±1,15	-	-	-	-	-	-	-
16	Borneol	35,92	1,02±0,15	4,03±0,66	0,69±0,48	11,9±7,21	-	29,4±1,58	15,8±2,47	15,1±2,99	15,2±2,22
17	Geranial	37,25	46,0±0,64	2,99±1,74	-	0,31±0,14	-	0,79±0,37	3,09±1,36	4,57±1,12	6,63±1,79
18	1,5,8 - mentatrieno	37,97	-	-	-	-	2,76±0,62	9,42±1,41	26,3±6,37	16,9±2,28	19,7±2,71
19	Acetato de geranila	38,17	4,77±1,21	0,67±0,25	-	-	-	-	-	-	-
20	Oxido de cariofileno	45,11	3,16±0,56	17,2±4,22	12,6±2,86	36,4±2,44	8,70±5,68	1,10±0,77	0,66±0,57	2,83±2,33	1,61±1,53
21	NI	47,70	-	-	-	-	10,9±2,73	-	-	-	-
22	Viridiflorol	48,17	-	-	-	10,7±1,45	2,89±0,93	1,74±0,60	-	2,63±0,94	2,40±0,48
23	Ledeno	48,45	-	-	67,8±3,02	-	-	-	-	-	-
24	Aromadendreno	48,52	-	-	-	-	-	1,11±0,29	-	1,72±0,62	1,82±0,37
25	Espatulenol	49,72	0,19±0,06	16,6±4,77	6,03±1,36	3,08±1,00	1,48±0,55	0,16±0,08	0,79±0,39	1,25±0,79	0,85±0,32
26	α-cadinaol	51,17	-	-	-	2,93±0,44	29,1±6,31	-	-	-	-
	Monoterpenos		86,7	25,87	2,0	23,68	16,44	72,54	84,1	72,75	74,17
	Sesquiterpenos		3,36	33,93	86,58	51,98	52,54	4,12	1,45	8,43	6,68
	Total		90,06	59,80	88,58	75,66	68,98	76,66	85,59	81,18	80,85

TR – tempo de retenção; AR- André da Rocha, SL- Santa Lúcia, BJ- Bom Jardim, CA- Capão Alto, MC- Muitos Capões, LA- Lages, CAM- Cambará, SJ- São Joaquim, SJ2- São Joaquim 2.

5.4. CONCLUSÕES

- Ocorrem diferenças quantitativas entre as populações de poejo de acordo com a localidade e o ano de cultivo;
- A melhor localidade para a produção da maioria das populações de poejo é Erechim; no entanto, a população Cambará não produz satisfatoriamente neste local, indicando interação genótipo x ambiente;
- As populações de poejo apresentam teores de óleo essencial distintos de acordo com o ambiente de cultivo. Algumas populações apresentam teores estáveis em todos os locais, outras diminuem os teores de óleo em ambientes considerados ruins para produção de biomassa, enquanto outras aumentam o teor nestas condições;
- A população Santa Lúcia apresenta ampla estabilidade e maior adaptabilidade aos ambientes para produção de biomassa e óleo essencial, porém suas médias não são satisfatórias. A população André da Rocha apresenta a maior média de produção de óleo essencial, sendo favorecida em ambientes favoráveis;
- Observa-se no óleo essencial de algumas populações, em todos os locais, uma maior concentração de sesquiterpenos com relação aos monoterpenos, sendo atribuído ao estresse ambiental.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALQUEZAR, J. B. **Investigación y experimentación de plantas aromáticas y medicinales em Aragon: cultivo, transformación y analítica.** Zaragoza: Gobierno de Aragon, 2003, 262 p.

BANDONI, A. **Los recursos vegetales aromaticos en Latinoamérica: su aprovechamiento industrial para la producción de aromas e sabores.** 2ª ed. Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata, 2002, 410 p.

BERLATO, M. A.; CORDEIRO, A. P. A. Variabilidade climática e agricultura do Rio Grande do Sul. In:_____. **As estiagens e as perdas na agricultura: fenômeno natural ou imprevidência?** XIII Livro da FEDERACITE, Porto Alegre: Ideograf, 2005, p. 43-69.

BORDIGNON, S. A. L. **Estudo botânico e químico de espécies de *Cunila Royen ex L. (Lamiaceae)* nativas do sul do Brasil.** Porto Alegre: UFRGS, 1997. 197 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

CORREIA DA SILVA, J. G. Agrupamento de genótipos segundo a adaptabilidade ao ambiente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 9, p. 1141-1154, 1995.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa : UFV, 1997, 390 p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - versão Windows:** aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001, 648 p.

DENNIS, D. T.; TURPIN, D. H. **Plant physiology, biochemistry and molecular biology.** Essex: Longman, 1992, 529 p.

ECHEVERRIGARAY, S.; FRACARO, F.; SANTOS, A. C.; PAROUL, N.; WASUM, R.; SERAFINI, L. A. Essential oil composition of South Brazilian populations of *Cunila galioides* Benth. and its relation with the geographic distribution. **Biochemistry Systematc and Ecology**, Oxford, v. 31, p. 467-475, 2003.

EISENREICH, W.; SAGNER, S.; ZENK, M. H.; BACHER, A. Monoterpenoid essential oils are not of mevalonoid origem. **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 38, n. 22, p. 3889-3892, 1997.

- ENDT, D. V.; KIJNE, J. W.; MEMELINK, J. Transcription factors controlling plant secondary metabolism: what regulates the regulators? **Phytochemistry**, Oxford, v. 61, n. 2, p. 107-114, 2002.
- FERRAZ DE MELLO, F. A.; SOBRINHO, M. O. C. B.; ARZOLLA, A.; SILVEIRA, R. I.; NETTO, A. C.; KIEHL, J. C. **Fertilidade do Solo**. São Paulo: Nobel, 1983, 400 p.
- FUENTE, E. B.; GIL, A.; LENARDES, A. E.; PEREIRA, M. L.; SUAREZ, S. A.; GHERSA, C. M.; GRASS, M. Y. Response of winter crops differing in grain yield and essential oil production to some agronomic practices and environmental gradient in the Rolling Pampa, Argentina. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 99, p. 159-169, 2003.
- FRACARO, F.; ECHEVERRIGARAY, S. Micropropagation of *Cunila galioides*, a popular medicinal plant of south Brazil. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 64, p. 1-4, 2001.
- FRACARO, F.; SERAFINI, L. A.; SANTOS, A. C. A.; PAROUL, N.; ECHEVERRIGARAY, S. Analysis of the essential oil composition of *Cunila galioides* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 14, p. 336-338, 2002.
- FRACARO, F.; ZACARIA, J.; ECHEVERRIGARAY, S. RAPD based genetic relationships between populations of three chemotypes of *Cunila galioides* Benth. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, p. 409-417, 2005.
- FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A.; VIEIRA, I. J. C. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 9, p. 887-894, 2004.
- HARBORNE, J. B. Plant secondary metabolism. In: CRAWLEY, M. J (ed.). **Plant Ecology**. Oxford: Blackwell Science, 1997, 717 p.
- HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. **Volatil oil crops: their biology, biochemistry and production**. Harlow: Longman Scientific & Technical, 1993.
- LOZIENE, K.; VENSKUTONIS, P. R. Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 33, p. 517-525, 2005.
- McCASKILL, D.; CROTEAU, R. Monoterpene and sesquiterpene biosynthesis in glandular trichomes of peppermint (*Mentha x piperita*) rely exclusively on plastid-derived isopentenyl diphosphate. **Planta**, Heidelberg, v. 197, p. 49-56, 1995.
- MCCONKEY, M. E.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. B. Development regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint. **Plant Physiology**, Rockville, v.122, p. 215-223, 2000.

PAULETTI, G. F.; BARROS, I. B. I.; ECHEVERRIGARAY, S.; SERAFINI, L. A.; ROTA, L. D.; SANTOS, A. C. Análise quantitativa da produção de óleos essenciais de *Cunila galioides* Benth. (poejo) cultivada no Rio Grande do Sul. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, suplemento 1, p. 408, 2003.

PORTO, R. O. As estiagens e as perdas na agricultura: fenômeno natural ou imprevidência? In:_____. **As estiagens e as perdas na agricultura: fenômeno natural ou imprevidência?** XIII Livro da FEDERACITE, Porto Alegre: Ideograf, 2005, p. 17-42.

RHEINHEIMER, D. S.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J.; ROBAINA, A. D.; ANGHINONI, I.; FLORES, J. P. C.; HORN, D. **Situação da fertilidade dos solos no Estado do Rio Grande do Sul.** Santa Maria : Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFSM, 2001, 41 p. (Boletim Técnico, 2).

RODRIGUES, C. R.; FAQUIM, V.; TREVISAN, D.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. ; RODRIGUES, T. M. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de coleta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, 2004, p. 573 –578.

SHAHI, A. K.; CHANDRA, S.; DUTT, P.; KAUL, B. L.; TAVA, A.; AVATO, P. Essential oil composition of *Mentha x piperita* L. from different environments of north India. **Flavor and Fragrance Journal**, New York, v.14, p. 5-8, 1999.

SIMON, J. E.; REISS-BUBENHEIM, D.; JOLY, R. J.; CHARLES, D. J. Water stress - induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. **Journal of Essential Oil Reserch**, Carol Stream, v.4, p. 71-75, 1992.

SIQUEIRA, O. J. F.; SCHERER, E. E.; TASSINARI, G.; ANGHINONI, I.; PATELLA, J. F.; TEDESCO, M. J.; MILAN, P. A.; ERNANI, P. R.; WIETHÖLTER, S. **Recomendações de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** Passo Fundo: SBCS-Núcleo Regional Sul / EMBRAPA -CNPT, 1989, 128 p.

SOUSA, M. M. M.; LÉDO, F. J. S.; PIMENTEL, F. A. Efeito da adubação e do calcário na produção de matéria seca e de óleo essencial de pimenta-longa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 405-409, 2001.

ZHANG, X. **Diretrizes de la Organización Mundial de la Salud para buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales.** Genebra: OMS, 2003, 79 p.

6. CONCLUSÕES GERAIS

Os experimentos realizados neste trabalho, de modo geral, visaram levantar subsídios para o entendimento dos processos de produção de metabólitos secundários em plantas aromáticas e medicinais, principalmente na questão relacionada aos óleos essenciais. De modo específico, buscou-se gerar subsídios tecnológicos para a produção de uma espécie nativa da região sul do Brasil, o poejo (*Cunila galioides* Benth.). A espécie escolhida apresenta grandes potencialidades de utilização como fornecedora de óleos essenciais de qualidade, já que, estudos realizados por diversos autores constataram a presença de compostos químicos de interesse para a indústria essenceira.

Esta espécie tem ocorrência natural em ambientes bastante específicos e normalmente sujeitos a ação constante do homem como, por exemplo, os campos utilizados na pecuária, onde os estudos de propagação da espécie foram importantes também no que diz respeito a aspectos conservacionistas.

Partindo da hipótese de que distintos ambientes de cultivo e tecnologias de produção adotadas influenciam a produção de forma quantitativa, bem como as propriedades químicas, as quais conferem a qualidade do produto final, os trabalhos realizados permitiram concluir que:

- O poejo é uma planta de fácil propagação podendo ser escolhida a forma, sexuada ou assexuada, de acordo com a finalidade;

- A espécie desenvolve-se bem em ambientes de cultivo semelhantes aos encontrados em seu habitat natural, mostrando-se resistente a elevados teores de alumínio no solo, e a composição química do óleo essencial não é afetada por este elemento;
- A resistência do poejo ao alumínio pode estar relacionada com a produção de flavonóides, o qual foi constatado em quantidades apreciáveis nas populações testadas;
- A utilização de doses elevadas de calcário promove modificações na fertilidade do solo reduzindo a produção de biomassa, o teor e a concentração de citral e limoneno no óleo essencial. Entretanto, observa-se efeito de interação e uma resposta distinta de acordo a população avaliada;
- A produção quantitativa é mais afetada pelas condições ambientais, do que a composição química do óleo essencial. No entanto, ocorrem modificações qualitativas importantes, dependendo da população ou quimiotipo pesquisado;
- O melhor ambiente para a produção de biomassa e óleo essencial, para a maioria das populações de poejo é inadequado para uma população específica, mostrando a ocorrência de uma forte interação genótipo x ambiente;
- Constatou-se, no óleo essencial, uma maior concentração de sesquiterpenos, em relação aos monoterpenos, em algumas populações cultivadas em condições de campo, em todas as localidades. A maior concentração destes compostos pode ser atribuída a uma resposta ao estresse ambiental provocado pela deficiência hídrica.

7. APÊNDICES



APÊNDICE I. Estaca de poejo (*Cunila galioides* Benth.) enraizada após 45 dias da estaquia.



APÊNDICE II. Caixa plástica utilizada como leito de enraizamento para a propagação de poejo (*Cynila galioides* Benth.).



APÊNDICE III. Germinação de poejo (*Cynila galioides* Benth.) em caixas gerbox, sob papel mata-borrão, 21 dias após a sementeira. Sementes tratadas com $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de ácido giberélico.



APÊNDICE IV. Vista geral do experimento com diferentes níveis de calagem aplicada ao substrato, após o transplante das mudas. Caxias do Sul, setembro de 2003.



APÊNDICE V. Vista geral do experimento com diferentes níveis de calagem aplicada ao substrato, no momento da primeira colheita. Caxias do Sul, dezembro de 2003.



APÊNDICE VI. Vista geral do sistema hidropônico utilizado para o cultivo de poejo (*Cunila galioides* Benth.) com distintas concentrações de alumínio na solução nutritiva. Caxias do Sul, 2003.



APÊNDICE VII. População Bom Jardim da Serra (A) e população André da Rocha (B) no final do experimento hidropônico com distintas concentrações de alumínio na solução nutritiva. Caxias do Sul, 2003.



APÊNDICE VIII. Vista geral do experimento à campo, na localidade de São Francisco de Paula – RS, no momento do plantio, dezembro de 2003.



APÊNDICE IX. Colheita do experimento na localidade de Erechim-RS, abril de 2004.

APÊNDICE X. Composição química do óleo essencial da população André da Rocha cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas	Santa Vitória
α - pineno	0.09	0.29	0.25	0.35	0.26
β -pineno	t	0.35	0.31	0.42	0.34
Sabineno	t	0.18	0.17	0.22	0.17
Mirceno	t	0.08	0.08	0.17	0.07
Limoneno	0.13	0.21	0.16	0.28	0.16
1,8 cineol	0.25	0.24	0.21	0.25	0.27
γ - terpineno	t	0.19	0.24	0.41	0.17
Trans β - ocimeno	0.06	0.08	t	t	0.11
Octen-3-ol	0.11	0.25	0.14	0.09	0.20
Linalol	2.012	1.68	2.27	1.65	1.69
Neral	30.60	31.31	31.95	33.04	31.12
Borneol	1.08	1.00	0.78	1.02	1.20
Geranial	46.49	45.54	46.84	45.37	45.69
Acetato de geranila	5.35	3.52	6.59	4.25	4.15
Oxido de cariofileno	3.68	3.60	2.41	2.75	3.37
Espatulenol	0.16	0.20	0.16	0.29	0.16

APÊNDICE XI. Composição química do óleo essencial da população Bom Jardim da serra cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas	Santa Vitória
Octen-3-ol	0.28	0.25	0.91	t	t
Linalol	0.94	0.32	0.52	t	t
Borneol	2.12	1.24	2.11	1.32	t
Óxido de cariofileno	15.05	14.10	12.19	14.05	7.88
Ledeno	64.48	68.13	71.91	65.42	69.52
Espatulenol	6.73	6.29	7.64	5.49	4.02

APÊNDICE XII. Composição química do óleo essencial da população Santa Lúcia cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas	Santa Vitória
α -pineno	0.67	0.27	0.64	0.89	0.55
β -pineno	0.59	0.23	0.49	0.67	0.43
Sabineno	0.38	0.17	0.35	0.50	0.31
Mirceno	0.75	0.23	0.48	0.46	0.42
Limoneno	19.47	7.51	15.16	15.98	12.09
g-terpineno	0.85	0.59	1.45	0.44	0.74
Trans β ocimeno	0.40	0.35	0.53	0.88	0.61
p-cimeno	0.14	t	0.10	t	t
Octen-3-ol	0.18	0.43	0.23	0.91	0.39
Linalol	2.22	1.58	1.90	1.11	1.21
Trans - 2,8- mentadieno	1.55	1.71	1.14	0.65	1.43
1,3,8 -mentatrieno	13.81	21.17	17.51	18.58	19.56
Borneol	12.16	18.55	15.29	15.54	17.66
Geranial	2.80	3.85	0.98	4.60	3.23
1,5,8 - mentatrieno	33.60	26.56	30.34	16.80	24.69
Oxido de cariofileno	0.22	0.67	0.23	1.63	0.55
Espatulenol	0.36	1.01	0.48	1.34	0.79

APÊNDICE XIII. Composição química do óleo essencial da população Lages cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas	Santa Vitória
α - pineno	5.32	5.64	5.48	3.92	3.44
Canfeno	11.82	11.94	11.66	8.68	7.76
β -pineno	2.20	2.23	2.16	1.60	1.41
Sabineno	1.03	1.07	1.18	0.81	0.72
Mirceno	0.51	0.50	0.45	0.32	0.26
Limoneno	6.22	6.05	5.20	5.11	4.77
α -terpineno	0.07	0.07	0.06	t	t
Trans β - ocimeno	0.25	0.40	0.55	0.55	0.49
p-cimeno	0.39	0.32	0.23	t	t
Octen-3-ol	0.05	0.06	0.08	0.10	0.08
Linalol	3.10	2.94	3.28	2.21	2.12
Trans - 2,8- mentadieno	1.57	1.94	1.58	1.30	1.24
1,3,8 -mentatrieno	3.85	4.32	3.81	4.12	3.78
Borneol	30.21	28.92	30.14	26.95	31.00
Geranial	0.52	0.88	0.43	0.78	1.38
1,5,8 - mentatrieno	11.31	10.04	9.75	7.87	8.16
Oxido de cariofileno	0.22	0.30	1.5	1.72	1.78
Viridiflorol	1.09	1.23	1.80	2.02	2.57
Aromadendreno	0.86	0.89	0.98	1.38	1.48
Espatulenol	0.06	0.09	0.18	0.25	0.24

APÊNDICE XIV. Composição química do óleo essencial da população Cambará cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas	Santa Vitória
α - pineno	t	1.09	1.83	1.85	t
α - tujeno	t	1.07	2.21	5.25	t
β -pineno	t	0.29	0.53	0.54	t
Sabineno	t	0.74	1.35	1.27	t
Mirceno	t	0.41	1.17	0.84	t
Limoneno	t	0.49	1.09	0.12	t
γ -terpineno	t	0.82	10.77	1.59	t
Trans β - ocimeno	t	2.46	1.75	0.67	t
p-cimeno	t	0.44	0.78	0.44	t
Octen-3-ol	t	2.42	0.62	1.67	t
Linalol	1.24	2.30	2.04	2.46	0.47
Trans - 2,8- mentadieno	3.90	0.67	4.56	0.53	t
1,3,8 –mentatrieno	0.50	0.21	0.48	2.47	t
1,5,8 - mentatrieno	2.60	2.02	3.36	3.45	2.37
Oxido de cariofileno	11.80	11.08	3.92	1.62	15.07
Viridiflorol	2.72	3.01	1.78	t	4.03
NI	12.33	12.25	7.74	8.38	14.00
Espatuleno	2.13	1.88	1.01	0.84	1.55
α -cadinol	35.44	27.89	21.64	24.85	35.74

APÊNDICE XV. Composição química do óleo essencial da população Capão Alto cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas	Santa Vitória
α - pineno	1.99	0.73	t	t	1.68
Canfeno	t	t	t	t	1.37
β -pineno	1.75	0.64	0.93	3.14	1.11
Sabineno	5.70	2.24	1.22	1.03	2.62
Mirceno	0.33	0.23	0.19	t	0.35
Limoneno	0.99	0.60	2.80	t	1.74
γ -terpineno	0.71	0.44	t	t	0.54
Trans β ocimeno	0.16	1.17	t	t	0.22
ρ -cimeno	0.68	t	0.49	t	0.72
Octen-3-ol	1.80	1.27	2.66	2.61	1.00
Linalol	1.43	1.87	2.81	2.41	1.16
Borneol	7.84	8.31	19.48	19.94	4.40
Geranial	0.22	0.23	t	t	0.47
Oxido de cariofileno	37.41	39.83	33.58	36.49	34.67
Viridiflorol	9.94	11.72	9.61	9.62	12.82
Espatuleno	3.29	3.78	2.12	1.98	4.24
α -cadinol	2.72	3.44	t	t	2.63

APÊNDICE XVI. Composição química do óleo essencial da população São Joaquim cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas	Santa Vitória
α - pineno	0.36	0.44	0.44	0.08	0.24
β -pineno	0.62	0.71	0.72	t	t
Sabineno	0.53	0.61	0.65	t	t
Mirceno	0.47	0.54	0.42	t	t
Limoneno	16.18	21.01	22.77	2.69	6.00
γ -terpineno	0.61	0.70	0.33	0.76	t
Trans - β -ocimeno	0.11	0.03	t	t	t
Octen-3-ol	0.60	0.76	0.37	0.37	0.26
Linalol	1.79	1.16	1.48	1.29	0.65
Trans - 2,8- mentadieno	2.35	1.5	2.16	0.79	2.66
1,3,8 –mentatrieno	14.95	20.32	14.24	13.92	20.88
Borneol	12.90	17.31	12.38	13.87	19.24
Geranial	3.18	4.19	5.02	6.20	4.25
1,5,8 - mentatrieno	18.28	13.71	19.56	17.43	15.70
Oxido de cariofileno	6.01	0.48	0.89	4.29	2.49
Viridiflorol	2.12	1.76	2.05	3.21	4.00
Aromadendreno	1.18	1.26	1.36	2.30	2.48
Espatuleno	2.45	0.42	0.67	1.28	1.43

APÊNDICE XVII. Composição química do óleo essencial da população Muitos Capões cultivada em cinco regiões do Rio Grande do Sul, 2003/2004.

Composto químico	Erechim	Caxias do Sul	São Francisco	Pelotas*	Santa Vitória
α - pineno	0.86	0.43	1.86	-	t
β -pineno	0.92	0.50	1.50	-	t
Sabineno	1.09	0.75	1.75	-	t
Mirceno	0.85	0.79	0.18	-	t
Limoneno	4.41	3.22	5.03	-	1.62
1,8 cineol	5.76	3.52	9.59	-	2.18
γ -terpineno	1.15	2.14	t	-	t
Trans b ocimeno	1.74	1.19	3.07	-	0.75
Octen-3-ol	0.21	0.48	0.25	-	t
Linalol	2.58	1.96	2.52	-	0.85
Neral	3.17	2.01	1.46	-	0.42
Borneol	4.68	4.36	3.90	-	3.17
Geranial	4.93	3.66	2.53	-	0.82
Acetato de geranila	0.70	0.49	0.46	-	1.01
Oxido de cariofileno	18.23	11.77	17.11	-	21.98
Espatuleno	14.12	15.59	13.26	-	23.66

*Amostra perdida

