

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum gratissimum* L.) EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO ORGÂNICA E ÉPOCAS DE CORTE.**

FRANCISCO CÉLIO MAIA CHAVES

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Horticultura.

**BOTUCATU-SP
Agosto-2001**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum gratissimum* L.) EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO ORGÂNICA E ÉPOCAS DE CORTE.**

FRANCISCO CÉLIO MAIA CHAVES

Orientador: Prof. Dr. Lin Chau Ming

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Horticultura.

**BOTUCATU-SP
Agosto-2001**

Á João Nunes e Argemira, meus pais
À Raimundo Nonato, Júlia Maria, Regina Helena,
Maria Iracema, Francisco Agamenon e César Nilton, meus irmãos
À Herson, Iandra, Aline e Pedro Júnior, meus sobrinhos

OFEREÇO

A Limoeiro do Norte – CE, minha cidade
A Fortaleza – CE, minha formação
A Botucatu – SP, minha vitória
A Manaus – AM, meu porto seguro

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela nossa eterna existência e esse presente divino que é a vida;

À Universidade Federal do Ceará (UFC) pela minha formação até o Nível de Mestrado;

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia/Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Botucatu (SP) pela oportunidade de realização deste curso;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo na fase inicial do curso;

À Embrapa Amazônia Ocidental (Manaus – AM) unidade da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pelo período de afastamento para conclusão do curso;

À Seção de Fitoquímica, Genética e Biologia Molecular, do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pela realização das análises fitoquímicas do óleo essencial;

Ao Grupo de Estudos com Plantas Medicinais, da Universidade Federal do Ceará (Sérgio, Prof. Renato, Prof. Matos, Gustavo e tantos outros) pela oportunidade de convivência, e saber que os ideais nunca perecem;

Ao Professor Lin Chau Ming, pela oportunidade de convivência e aprendizado durante a orientação, e amizade sincera; e além de ser um expoente na área de plantas medicinais;

Ao Professor Dirceu Maximino Fernandes pela co-orientação e direcionamento na condução do trabalho, e presteza no atendimento;

A Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques, pela sinceridade e exemplo de profissional;

Ao Professor Roberto Lira Villas-Boas, pela contribuição valiosa durante e após a conclusão do trabalho experimental;

Ao Professor José Magno Queiroz Luz, pela clareza e direcionamento na conclusão do trabalho;

Ao Dr. Roberto Fontes Vieira, da Embrapa/Cenargen, um dos expoentes no Brasil, no estudo do Gênero *Ocimum*, e pelas valiosas sugestões durante o trabalho;

À Profa. Romy Goto, “mãe” e amiga de todas as horas, além de possuir um profissionalismo ímpar;

Ao amigo Antônio Marcos Esmeraldo Bezerra, pela paciência e auxílio nas elucidações das questões estatísticas; e por acreditar no estudo das plantas medicinais;

Aos outros Professores do Departamento, pela amizade e aprendizado vivenciado nesse período;

Aos Colegas da Pós-Graduação da Turma de 1999: Valdemir, Paulo César, Celina, Mauro Brasil, Fedra, Mosca, Renato Botelho, Alessandra, Nívea, pela oportunidade de convivência e amizade construída ao longo do curso;

Ao Valdemir Antônio Laura, amigo a quem não se esquece jamais;

A Magnólia e Polyana, amigas e “salvadoras” de todas as horas, quando estamos distantes em busca de um ideal;

À Sandra, Maria dos Anjos, Ari, Lílian, Magnólia, Polyana, Roseane, e demais da Turma de 2000, que juntos formamos um grupo expoente na área de estudo com plantas medicinais;

À Dra. Mírian Stefanini, perseverante, batalhadora e amiga de todas as horas;

Aos Técnicos Agrícolas Rafael Golino, Amanda Bianchi, e especialmente Eduardo Augusto, meu bolsista e prestativo em todas as horas;

Aos Funcionários do Laboratório Edvaldo e Admilson, assim como Ana, Neusa, e todos (Sr. Tomé, Amauri, Márcio, Lima, Osmar) do Setor Experimental pela valiosa contribuição no trabalho de campo;

À Rosemeire Penaloza, pela convivência e amizade;

Aos companheiros e companheiras Sílvio, Santino, Rubem, Abramo, Juliana, Kátia, e tantos outros que guardarei para sempre comigo;

Enfim, a todos que, de alguma forma contribuíram para que eu pudesse dar mais esse vôo.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE QUADROS.....	IX
1. RESUMO.....	1
2. SUMMARY.....	4
3. INTRODUÇÃO.....	7
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
4.1 Aspectos Gerais das Plantas Medicinais.....	11
4.2 Aspectos Gerais do Gênero <i>Ocimum</i>	15
4.3 Aspectos Gerais de <i>Ocimum gratissimum</i>	20
4.4 Aspectos Gerais de Cultivo.....	26
4.4.1 Época de Colheita.....	27
4.5 Adubação em Plantas Medicinais.....	34
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
5.1 Descrição do Local do Experimento.....	42
5.2 Experimento: Adubação orgânica x Época de corte.....	43
5.3 Variáveis Respostas.....	46
5.3.1 Teor de Umidade de Folhas, Inflorescências e Caules.....	46
5.3.2 Produção de Matéria Seca de Folhas, Caules e Inflorescências.....	47
5.3.3 Relação Caules/(Folhas + Inflorescências).....	47
5.3.4 Rendimento e Produção de Óleo Essencial de Folhas e Inflorescências...	47

5.3.5 Composição Química do Óleo Essencial de Folhas e Inflorescências.....	48
5.3.6 Teores e Extração de N,P e K em Folhas e Inflorescências.....	49
5.4 Rebrote.....	49
5.5 Análises Estatísticas.....	50
5.6 Variáveis Climáticas.....	51
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
7. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	118
8. CONCLUSÕES.....	120
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123
APÊNDICE.....	143
Apêndice 1.....	144
Apêndice 2.....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Plantas Medicinais em Ocorrência no Brasil – Espécies, Princípios Ativos, Origem das Plantas e dos Estudos (Adaptado de Matos, 1990).....	13
2	Características químicas do solo onde foi realizado o experimento. UNESP/Botucatu - SP, 1999.....	43
3	Características químicas do esterco de poedeira utilizado no experimento. UNESP/Botucatu - SP, 2000.	44
4	Análise de variância do experimento, com a = 04 doses de adubo, b = 04 épocas de corte (estações do ano), com r = 04 blocos. UNESP/Botucatu – SP, 2002.....	50
5	Quadrados médios das variáveis produção de folhas (g/06 plantas), teores e quantidade de NPK nas folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	56
6	Quadrados médios das variáveis produção de caules, inflorescências e total, relação C/(F+I), rendimentos de óleo essencial de folhas e inflorescências, de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	57
7	Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	58
8	Extração de N (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	62
9	Extração de P (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	63
10	Extração de K (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	63

11	Teores de N (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, em função, da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	64
12	Teores de P (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	65
13	Teores de K (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	65
14	Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	66
15	Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	68
16	Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	70
17	Relação C/(F+I) e rendimentos (%) de óleo essencial de folhas e inflorescências e produção de óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	73
18	Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.	79
19	Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.	81
20	Componentes (%) do óleo essencial das folhas de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	82
21	Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	88
22	Componentes (%) do óleo essencial das inflorescências de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.	89

23	Quadrados médios das variáveis produção de folhas (g), teores e quantidade de NPK nas folhas de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	91
24	Quadrados médios das variáveis produção de caules, inflorescências e total; relação C/(F+I), rendimento e produção de óleo essencial de folhas e inflorescências de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	92
25	Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	93
26	Extração de N (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	95
27	Extração de P (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.	95
28	Extração de K (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.	95
29	Teores de N (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.	98
30	Teores de P (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.....	98
31	Teores de K (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.....	99
32	Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	99
33	Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	101

34	Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, oriunda do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	103
35	Relação C/F+I e rendimento (%) de óleo essencial de folhas e inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	104
36	Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	108
37	Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	110
38	Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das folhas do rebroto de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	111
39	Componentes (%) do óleo essencial das folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.....	112
40	Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das inflorescências do rebroto de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	115
41	Componentes (%) do óleo essencial das inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.....	116

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Fórmulas estruturais dos compostos do óleo essencial das folhas e inflorescências avaliados neste estudo. UNESP/Botucatu – SP, 2002.....	23
2	Variáveis meteorológicas registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu – SP, 2002.....	52
3	Variáveis meteorológicas registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu – SP, 2002.	53
4	Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	59
5	Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	67
6	Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	69
7	Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	71
8	Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	79
9	Cromatograma do óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	84
10	Cromatograma do óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	85

11	Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de eugenol.....	85
12	Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de 1,8-cineol...	85
13	Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de β -selineno...	86
14	Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de trans-cariofileno.	86
15	Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de cis-ocimeno.	86
16	Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de óxido de cariofileno.....	86
17	Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de α -selineno..	87
18	Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.	94
19	Detalhes da espessura do caule após o primeiro corte (outono) (\varnothing 14,4 mm). UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	97
20	Detalhes da espessura do caule após o quarto corte (verão) (\varnothing 25,75 mm). UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	97
21	Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	100
22	Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	102
23	Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	103
24	Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	108
25	Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.....	110

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Quadro 1- Panorama da Utilização das Plantas Medicinais. (Adaptado de Farnsworth et al., 1986 e Graça et al,1990).....	14
2	Quadro 2. Componentes do óleo essencial de alfavaca-cravo mostrando propriedades como massa molecular, fórmula química e uso.....	22

1. RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar o desenvolvimento da alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) submetida a doses crescentes (0, 4, 8 e 12 kg/m²) de adubo orgânico (esterco de poedeira) em função da época de corte, com influências na produção de folhas, de caules, de inflorescências e total, nos teores e quantidades extraídas de NPK das folhas, no rendimento de óleo essencial de folhas e inflorescências e na composição destes, assim como todos esses componentes avaliados também no rebroto, nas condições de Botucatu – SP. Para tanto foi instalado um experimento em blocos ao acaso, com 04 repetições, com parcelas subdivididas, sendo as parcelas as doses de adubo e as subparcelas as épocas de corte, no Setor de Horticultura do Departamento de Produção Vegetal, da Fazenda Experimental Lageado da FCA – Unesp/Botucatu (SP). A semeadura foi realizada em agosto de 1999. O plantio definitivo no campo foi realizado no início de janeiro de 2000, quando

tinham aproximadamente 30 cm. O espaçamento adotado entre fileiras foi de 1,0 m, com 0,8 m entre plantas. Cada parcela (com 05 fileiras), tinha 64,0 m² (5,0 m x 12,8 m) onde recebeu o tratamento principal (doses de adubo). Cada subparcela ocupou uma área de 16,0 m² (5,0 m x 3,2 m) onde foi efetuado o corte a cada 03 meses (outono, inverno, primavera e verão). O corte foi efetuado a uma altura de 30,0 cm em relação à superfície do solo. As extrações foram realizadas através de hidrodestilação, com o uso de Aparelho Tipo Clevenger. O rendimento médio (das duas amostras/subparcela) das folhas e inflorescências foi calculado em base seca. As análises da composição química dos óleos essenciais foram conduzidas em Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas. A identificação dos compostos foi efetuada por comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 libr.) e literatura e determinou-se os índices de retenção de Kovats, comparando os mesmos com os da literatura. Os resultados demonstraram que as doses crescentes de adubo orgânico favoreceram a um aumento na produção dos componentes da parte aérea da planta (folhas, caules e inflorescências) e em conjunto a produção total, sendo que a ausência desta proporcionou os menores valores para estas estruturas. Nas estações climáticas, a partir da primavera houve diferença estatística para folhas e inflorescências, sendo que os caules e a produção total só apresentaram isso no verão. Os teores de NPK apresentaram valores crescentes em função das doses de adubo e com o avanço das épocas de corte, exceto para os teores de k que decresceram nas épocas de corte. Em relação às quantidades extraídas, houve aumento no acúmulo desses nutrientes nas doses e épocas de corte. O rendimento de óleo essencial das folhas maior do que das inflorescências, embora ambos não apresentaram diferença estatística para as doses, o que não se verificou para as estações climáticas, pois o verão apresentou os maiores valores (significativos) para ambos. O principal componente do

óleo essencial das folhas foi o eugenol, vindo em seguida o 1,8-cineol, β -selineno, trans-cariofileno e cis-ocimeno, sendo que as estações climáticas favoreceram a uma maior variação nesta proporção relativa, com o verão apresentando diferença significativa para o eugenol, enquanto no inverno, o β -selineno e o trans-cariofileno tiveram as maiores proporções relativas. Nas inflorescências o principal constituinte foi o 1,8-cineol, com o eugenol apresentando valores baixíssimos, tanto em função da adubação como nas épocas de corte. Na avaliação do rebroto, as produções de folhas, caules, inflorescências e produção total aumentaram em função de ambos os tratamentos até a avaliação da primavera, mas, foram influenciadas negativamente no rebroto da última época de corte. Os teores de NPK aumentaram em função das doses de adubo e épocas de corte, com exceção para P que decresceu na avaliação do verão. As quantidades extraídas para esses macronutrientes também aumentaram até a avaliação do rebroto da primavera, mas decresceram no último rebroto (verão). O rendimento de óleo essencial para folhas do rebroto foi inferior aquele do primeiro corte, o que não se verificou para as inflorescências. Similarmente aos componentes do óleo essencial das folhas e inflorescências do primeiro corte, foi verificado também para os oriundos do rebroto, sendo que o eugenol foi mais influenciado pelas baixas temperaturas do que no primeiro corte.

BIOMASS PRODUCTION, YIELD AND COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL IN CLOVE BASIL (*Ocimum gratissimum* L.) BASED ON ORGANIC FERTILIZATION AND HARVEST TIMES. Botucatu, SP – 2002. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Author: FRANCISCO CÉLIO MAIA CHAVES

Adviser: LIN CHAU MING

Co-Adviser: DIRCEU MAXIMINO FERNANDES

2 SUMMARY

The aim of this work was to analyse the development of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.) as a function of increasing doses (0, 4, 8, 12 kg/m²) of organic fertilizer (hen manure) and harvest time, considering the influences on leaves, stems, inflorescences and total biomass productions, in the tenors and quantities of NPK extracted from leaves, in the yield and composition of essential oil from leaves and inflorescences, as well as the evaluation of all these parameters in the sprouting, in Botucatu - SP conditions. In order to that, the experimental design was completely randomized and divided in groups, with four replications and subdivision of these portions, being the main treatment the different doses of fertilizer and the secondary the seasons (Autumn, Winter, Spring and Summer). This work was accomplished at the Section of Horticulture of the Department of Plant Production, Lageado Experimental Farm, FCA (Faculdade de Ciências Agronômicas) – Unesp/Botucatu (SP). The sowing was carried out in August 1999, and the field planting happened in the beginning of January 2000, when the plantelets were approximately 30 cm high. The interval adopted between each row was of 1,0 m, with 0,8 m between the plants. Each portion (with 05 rows) was 64,0 m² (5,0 m x 12,8 m) and received the main treatment (fertilizer doses). Each subdivision of the portion occupied an area of 16,0 m² (5,0 m x 3,2 m). The harvest of the useful area took place in the middle of each season (secondary treatment), corresponding to

May (Autumn), August (Winter) and November (Spring) of 2000 and February 2001 (Summer) and was carried out at a height of 30,0 cm from the ground surface. The extraction of the essential oils was done by hydrodistillation using a Clevenger Apparatus. The average yield in the leaves and inflorescences was calculated according to a dried basis. The chemical compositions of the essential oils were analysed by Gas Chromatography/Mass Spectrometry and the identification of the compounds was made by the comparison of their mass spectra with the database of the system GC-MC (Nist. 62 libr.) and the literature. Their Kovats indexes were determined comparing the data to those in the literature. The results showed that the production of the aerial parts of the plant (leaves, stems and inflorescences) and the total production as a whole were higher with the increase of the doses of organic fertilizer. The absence of fertilization resulted in the lowest values for these structures. Concerning the seasons, from the spring on the productions of leaves and inflorescences were statistically different, but the stems and total productions presented a difference only in the summer. The tenors of NPK presented increasing values as a function of the increase in the fertilizer doses and of the advance on the harvest seasons, except for the tenors of K that decreased in the harvest seasons. Concerning the quantities extracted, there was an increase in the accumulation of these nutrients in the higher doses and in the last harvest seasons. The yield of the essential oil was higher in the leaves than in the inflorescences. Although none presented statistical differences in the doses of fertilizer, in the season parameter the highest values (significant), for both of them, occurred in the summer. The main compound of the leaves essential oil was eugenol, followed by 1,8-cineole, β -selinene, trans-cariophilene and cis-ocimene. The seasons presented the highest variations in this relative proportion, with the summer presenting higher concentrations of eugenol and the winter of β -selinene and trans-cariophilene. In the inflorescences the main compound was 1,8-cineole, with eugenol presenting low values as a function of fertilization and seasons. In the evaluation of the sprouting, the production of leaves, stems, inflorescences and total biomass increased as a function of both treatments until the evaluation of the spring, but they were negatively influenced in the sprouting of the last harvest season. The tenors of NPK increased as a function of the fertilizer doses and harvest seasons, with the exception of P that decreased in the summer evaluation. The quantities of these macronutrients also increased until the

evaluation of the spring, but decreased in the last sprouting (summer). The yield of the essential oil from the sprout leaves was lower from that of the first harvest, what was not verified in the inflorescences. Similarly to the compounds of the essential oil from leaves and inflorescences, it was also verified that in the parts of the sprout, eugenol was more influenced by the low temperature than in the first harvest.

Keywords: *Ocimum gratissimum*, secondary metabolism, harvest times, fertilization, essential oils.

3. INTRODUÇÃO

Com o advento da indústria química e expansão da mesma a partir do início do século XX, as plantas medicinais, temporariamente, ficaram relevadas a um segundo plano, embora as populações mais afastadas dos centros urbanos continuassem a utilizá-las. O aumento da população, associado a uma maior conscientização por parte da maioria desta em relação ao meio ambiente, associada ao uso de produtos naturais, buscando alimentos mais saudáveis, inseriram também neste contexto as plantas medicinais.

Por outro lado, o aumento das atividades antrópicas tem levado a degradação dos ecossistemas, comprometendo a oferta de origem extrativista de produtos naturais, levando os órgãos competentes a listarem plantas (Lewington, 1993) e animais em categorias de espécies extintas ou mesmo em processo de extinção, exigindo, portanto, a

adoção de estratégias que venham a suprir essa demanda em termos de matéria-prima oriunda de plantas medicinais.

Acredita-se que um passo importantíssimo foi a implantação, em vários cursos de Agronomia e áreas afins, de disciplinas relacionadas ao cultivo de plantas medicinais, quer isoladamente ou como parte do conteúdo de outras disciplinas, principalmente da área de Horticultura, permitindo embasamento técnico-científico para o cultivo das mesmas (Ming, 1994). O cultivo de plantas tem como suporte várias áreas da Ciência, destacando-se a Fitotecnia, Biologia, Botânica, Nutrição, Fisiologia, Fisiologia Pós-Colheita, etc. Tomando-se como ponto de partida a nutrição, sabe-se que esta pode ser suprida com produtos de origem sintética, animal ou mesmo de origem vegetal e também mais recentemente com resíduos de origem urbana.

A oferta de matéria-prima de boa qualidade ao longo do ano requer práticas fitotécnicas adequadas a cada espécie de planta medicinal, a qual está sob a influência das estações climáticas, capacidade de rebroto, da absorção de nutrientes disponíveis no solo, etc. Entre estas espécies está a alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.), um arbusto com mais de 1,5 m de altura, cujas folhas e inflorescências contêm óleo essencial rico em eugenol, conferindo-lhe ação anti-séptica local contra fungos (*Aspergillus* e *Trichoderma*) e bactéria (*Staphylococcus*), podendo ainda ser utilizada como aromatizante bucal (Matos, 1998).

O entendimento do comportamento dos chamados metabólitos secundários de plantas se constitui atualmente em uma das áreas de maior interesse por parte dos pesquisadores de produtos naturais, visto que o uso de substâncias sintéticas tem o seu uso cada dia mais restrito (Nolasco, 1996).

Apesar de os metabólitos secundários serem controlados geneticamente (Trapp & Croteau, 2001), os componentes ambientais influenciam na quantidade e concentração destes. Dentre esses fatores ambientais podem se destacar a luz (intensidade e fotoperíodo), a latitude, a temperatura (mínima, máxima e média), o solo (propriedades químicas e físicas, através da fertilidade – macro e micronutrientes), os ventos, a disponibilidade de água, etc, ou mesmo esses fatores em conjunto, como é o caso da sazonalidade. Desta forma, os vegetais respondem diferentemente à chamada Engenharia Ecológica, que segundo Tétényi (1970), citado por Brown Jr. (1988) é a grande flexibilidade quimiossintética que os vegetais apresentam para produzir micromoléculas, como as que compõem as misturas complexas dos metabólitos, entre as quais se destacam os óleos essenciais.

Estes fatores apresentam respostas diferenciadas nas diversas espécies estudadas, sendo portanto necessário se considerar as condições ambientais ideais para obtenção de máxima produção destas. Práticas agronômicas também estão estreitamente relacionadas a esses fatores, visto que o preparo do solo, irrigação, tratamento da semente, espaçamento, reguladores vegetais, adubação, data de plantio, época de colheita, secagem, entre outros, devem ser levadas em conta quando se deseja produção de biomassa e de produtos naturais.

Na tentativa de suprir um pouco essa demanda de informação, principalmente a respeito da adubação e épocas de corte em *O. gratissimum* L., realizou-se esta pesquisa com o objetivo de verificar o desenvolvimento desta espécie submetida a doses crescentes (0, 4, 8 e 12 kg/m²) de adubo orgânico (esterco de poedeira) em função de 04 épocas de corte, com influências na produção de folhas, de caules, de inflorescências e total,

no rendimento de óleo essencial de folhas e inflorescências e na composição destes, assim como todos esses componentes avaliados também em função do rebroto, nas condições de Botucatu – SP.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Aspectos Gerais das Plantas Medicinais

A dependência do homem em relação às plantas se dá em todos os seus aspectos, pois este, nos seus primórdios, possivelmente dependia muito das mesmas para alimentar-se, através de atividades de coleta. Com o processo evolutivo, essa relação tornou-se cada vez mais unilateral, pois as suas necessidades básicas foram e estão dependentes das mesmas, como vestimenta, perfumaria, farmacologia, etc.

Considerando-se do ponto de vista das plantas medicinais, algumas teorias tentam explicar porquê só determinadas espécies estão incluídas nesta categoria (Font

Quer, 1967 e Di Stasi, 1996). O certo é que ainda hoje grande número de espécies de plantas tem seu uso medicinal pelo homem (Farnsworth et al., 1986 e Graça et al., 1990).

Passados mais de 500 anos do descobrimento do Brasil e não se tem, ainda, o conhecimento sistematizado das plantas brasileiras, principalmente em relação às medicinais, embora os primeiros relatos científicos destas espécies, através da primeira história natural brasileira, por Wilhem Pies e Georg Marcgraf, integrantes da expedição holandesa chefiada por Maurício de Nassau, incluíam um herbário de plantas medicinais (MASP, 1994, citado por Amorozo, 1996).

Daquele século até hoje, o estudo das plantas medicinais brasileiras concentrou-se principalmente na área química e este estudo foi realizado, em sua grande maioria, por cientistas estrangeiros (Tabela 1), segundo Matos (1990). O mesmo afirma ainda que, das centenas de espécies medicinais existentes, apenas 5%, aproximadamente, tem sido objeto de pesquisa.

A O.M.S. (Organização Mundial da Saúde) preconiza que o uso de plantas medicinais, deva ser estendida à atenção básica de saúde (Matos, 1998), nos países em desenvolvimento, através da fitoterapia.

De acordo com Neves (1982), o mundo contemporâneo retorna às plantas devido à poluição medicamentosa dos quimioterápicos, conforme dados da Prensa Aromática que revela o mercado mundial de produtos botânicos medicinais da ordem de 14 bilhões anuais. Só a Europa responde por metade desse valor, com destaque para a Alemanha (50 %) e depois a França. O Japão e outros países da Ásia também acumulam vendas volumosas, mostrando-se crescente também nos Estados Unidos (Garcia et al., 1999 e 2000).

Tabela 1- Plantas Medicinais em Ocorrência no Brasil – Espécies, Princípios Ativos, Origem das Plantas e dos Estudos (Adaptado de Matos, 1990).

Espécies	Princípios ativos	Classe química	Origem da planta	Local de estudo	Atividade biológica
<i>Allium sativum</i> L. (cult)	Ajoeno	Sulfetos orgânicos	Cosmopolita	USA	Antitrombótico
<i>Aloe vera</i> (L.) Burn. (cult)	Aloina	Antronas	Tropical	Europa	Laxante
<i>Ananas cosmosus</i> (L.) Merrill. (cult)	Bromelina	Enzima proteolítico	Tropical	Europa	Mucolítico, disgestivo, proteolítico
<i>Carica papaya</i> L. (cult)	Quimiopapaina	Enzima proteolítico	Tropical	Europa	Mucolítico, digestivo
<i>Catharanthus roseus</i> G. Don (cult)	Vimblastina	Alcalóides	Tropical	USA	Antileucêmico
<i>Cephaelis ipecacuanha</i> A. Rich. (silv)	Emetina	Alcalóides	Brasil	Europa	Emético, amebicida
<i>Chondodendrum tomentosum</i> Ruiz et Pav. (silv)	Tubocurarina	Alcalóides	Brasil	USA	Miorrelaxante, paralisante muscular
<i>Cissampelos pareira</i> L. (silv)	Cissampelina	Alcalóides	Brasil	USA	Miorrelaxante
<i>Citrus sinensis</i> Osbeck. (cult.)	Hesperidina	Flavonóides	Tropical	USA	Antifragilidade capilar (vit. P)
<i>Curcuma longa</i> L. (cult)	Curcumina	Fenilpropanóides	Tropical	Europa	Colerético
<i>Datura metel</i> L. e espécies afins	Escopolamina	Alcalóides	Tropical	Europa	Sedativo, antiespasmódico, alucinógeno
<i>Datura stramonium</i> L. e espécies afins (silv)	Hiosciamina	Alcalóides	Tropical	Europa	Antiespasmódico, midriático
<i>Eclipta alba</i> L. (silv)	Vedelolactona	Cumarinas	Tropical	Europa	Imunoestimulante
<i>Gossypium</i> ssp (cult)	Gossipol	Sesquiterpenos	Tropical	USA	Anticonceptivo masculino
<i>Lonchocarpus urucu</i> Benth. (silv)	Rotenona	Flavonóides	Brasil	USA	Inseticida,ictiotóxico
<i>Matricaria chamomilla</i> L. (cult)	Bisabolol	Sesquiterpenos	Europa	Europa	Antiinflamatório tópico
<i>Mucuna doeringeana</i> Small. (cult)	Levo-dopa	Fenilpropanóides	Brasil	USA	Antiparksoniano
<i>Nicotiana tabacum</i> L. (cult)	Nicotina	Alcalóides	Tropical	Europa	Inseticida
<i>Periandra mediterranea</i> (Vell. Conc.) Taubert (silv)	Periandrina	Triterpenos	Brasil	Japão	Adoçante
<i>Pilocarpus microphyllus</i> (silv)	Stapf. Pilocarpina	Alcalóides	Brasil	Europa	Parasimpatomimético (glaucoma)
<i>Tabebuia avellanadae</i> Griseb. (silv)	Lor. Ex Lapachol	Quininas	Brasil	USA	Antitumoral, antiinflamatório
<i>Theobroma cacao</i> L. (cult)	Teobromina	Purinas	Tropical	Europa	Diurético, vasodilatador

(cult) = cultivada

(silv) = silvestre

No preparo de medicamentos, atualmente, em todo o mundo, as plantas medicinais contribuem com uma terça parte das substâncias sintéticas. Segundo Farnsworth et al. (1986) e Graça et al. (1990), observa-se no mundo atual uma intensificação do uso de plantas para fins medicinais, até mesmo pelas populações de países mais industrializados (Quadro 1). Isto deve-se ao alto custo das pesquisas voltadas à descoberta e

fabricação de novos medicamentos sintéticos, aumento do número de doenças resultantes do uso excessivo de quimioterápicos e questões de ordem sócio-econômicas. Tais circunstâncias levaram o governo brasileiro, em 1986 (8ª Conferência Nacional de Saúde, Brasília), a adotar como prática oficial a fitoterapia nos serviços de saúde pública, em caráter complementar, decisão esta que condiciona as plantas medicinais a um estudo aprofundado do ponto de vista da fitotecnia, taxonomia, antropologia, farmacologia e química.

No Brasil alguns programas de cunho social se destacam com o uso da fitoterapia, podendo citar como referência, o Projeto "Farmácias Vivas" da Universidade Federal do Ceará (UFC) (Matos, 1998), Programa de Fitoterapia da Prefeitura Municipal de Curitiba (Correa Jr. et al., 2000) e o Programa Municipal de Fitoterapia de Vitória – ES (Sacramento, 2000). O Projeto “Farmácias Vivas” conta atualmente com mais de 50 espécies validadas cientificamente como medicinais (Matos, 1998).

Quadro 1- Panorama da Utilização das Plantas Medicinais. (Adaptado de Farnsworth et al., 1986 e Graça et al., 1990).

Europa	- Cerca de 10% das especialidades farmacêuticas utilizadas na década de 70 derivam de produtos naturais (em sua maioria vegetais).
EUA	- de 1959 a 1980, 25% dos medicamentos prescritos e comercializados nas farmácias continham extratos de plantas ou princípios ativos preparados a partir de vegetais superiores.
China e Índia	- O uso de medicamentos de origem vegetal é superior aos quimiossintéticos.
Brasil	- Ainda não se dispõe de dados seguros.

Albuquerque & Andrade (1998), através de um levantamento etnobotânico mostraram os usos tradicionais de 04 espécies de *Ocimum* (*Ocimum gratissimum* L., *Ocimum sanctum* L., *Ocimum americanum* L. e *Ocimum basilicum* L.) traçando um paralelo entre o uso destas na África e no Brasil, sugerindo que o uso de *Ocimum* e outras

plantas, está associado com a preservação da medicina popular africana. Vieira & Simon (2000) caracterizaram quimicamente os tipos de *Ocimum* encontrados em mercados e usados na medicina popular brasileira. Tradicionalmente as espécies de *Ocimum*, no Brasil, são usadas para tratamentos contra febre e males estomacais, analgésicos, estimulantes, emenagogos e eméticos. (Correa, 1984).

No Brasil poucas pesquisas com espécies medicinais arbustivas têm sido objeto de informações científicas. Por outro lado, a Índia, através de diversos autores (Atal & Kapur, 1982; Balyan & Sobti, 1990; Bhattacharya et al., 1996; Choudhury et al., 1986; Gupta, 1994, etc.) têm realizado com o gênero *Ocimum* diversas pesquisas, enfocando desde germinação da semente, fenologia, nutrição, época de corte, etc, assim como na área de metabolismo secundário associado a estas pesquisas.

4.2. Aspectos gerais do gênero *Ocimum*

O gênero *Ocimum*, da família Labiatae, é uma importante fonte de muitos óleos essenciais, sendo usado na medicina popular de praticamente todos os continentes (Albuquerque & Andrade, 1998; Simon et al., 1998; Sobti & Pushpangadan, 1982 e Vieira & Simon, 2000).

As espécies do gênero *Ocimum*, pelo fato de seu óleo apresentar diversos constituintes de interesse comercial, largamente utilizados pelas indústrias, tem grande procura, sendo utilizado na alimentação, medicamentos, cosméticos, etc. Essa perspectiva de uso é ainda maior, pois tem aumentado cada vez mais a restrição ao uso de aromatizantes artificiais (Nolasco, 1996).

Geograficamente, 30 espécies de *Ocimum* estão distribuídas pelo mundo, sendo o gênero bem representado nas regiões quentes de ambos os hemisférios, ocorrendo do nível do mar até 1800 m de altitude. O maior número de espécies está nas florestas tropicais da África, sendo a África, América do Sul (Brasil) e Ásia os principais centros de diversidade do gênero (Paton et al., 1999).

Tradicionalmente as espécies de *Ocimum*, no Brasil, são usadas para tratamentos contra febre e males estomacais, analgésicos, estimulantes, emenagogos e eméticos (Correa, 1984).

Recentemente Vieira & Simon (2000) e Vieira et al. (2001) caracterizaram quimicamente espécies de *Ocimum* encontradas nos mercados e usadas na medicina popular brasileira. Foram coletados 14 acessos assim distribuídos: *Ocimum americanum* L. (1), *O. basilicum* L. (3), *O. campechianum* (3), *O. gratissimum* L. (5) e *O. selloi* Benth. (2). Estes materiais foram levados para a Universidade de Purdue (USA) e cultivados. Em pleno florescimento foram coletados e seus óleos essenciais extraídos por hidrodestilação (Aparelho tipo Clevenger). Os rendimentos (em base seca) obtidos variaram de 0,3 a 3,6 %. Quimicamente *O. gratissimum* mostrou alto percentual de eugenol (40-66 %) e timol (31 %), *O. campechianum* revelou alto teor de 1,8-cineol (62 %) e β -cariofileno (78,7 %), para *O. basilicum* foram encontrados os seguintes constituintes: 1,8-cineol (22 %), linalol (49,7 %), metil chavicol (47 %) ou cinamato de metila (65,5 %). *O. americanum* apresentou alto teor de cinamato de metila (≥ 90 %) e *O. selloi* revelou como principal constituinte metil chavicol (± 40 %).

Essa diversidade em termos quantitativos e qualitativos revela toda a complexidade de constituição dos óleos essenciais, que por definição são misturas complexas, podendo conter 100 ou mais compostos orgânicos (Waterman, 1993) normalmente são voláteis aromáticos que conferem odor característico à planta (Matos, 1998). Os terpenos e fenilpropenos são as classes de compostos mais abundante no óleo essencial. Estes são denominados constituintes majoritários, e ainda utilizados na caracterização das propriedades do óleo (Guenter, 1943) e na identificação de raças químicas (Charles & Simon, 1992). Componentes minoritários também apresentam significativa importância, sendo normalmente produzidos no final das rotas metabólicas (Waterman, 1993).

Os terpenos são derivados da rota metabólica do ácido mevalônico e classificam-se em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, apresentando estruturas de 10, 15 e 20 carbonos, respectivamente, dentre outros. Cada composto possui blocos de cinco carbono, denominados unidades de isoprenos. Os monoterpenos apresentam duas destas unidades, os sesquiterpenos três e os diterpenos quatro unidades. Os monoterpenos são muito voláteis, normalmente, predominam como componentes nos óleos essenciais, formando estruturas acíclicas, monocíclicas e bicíclicas. Os sesquiterpenos apresentam maior número de carbonos, entretanto, são menos voláteis e são considerados de menor importância (Waterman, 1993).

Os fenilpropanóides são derivados da rota metabólica do ácido chiquímico, e apresentam estruturas formadas basicamente de um anel aromático, constituído por seis carbonos ligados a uma cadeia lateral com três carbonos, contendo uma dupla ligação, e podem apresentar um grupo funcional com oxigênio (Waterman, 1993 e Mann, 1994).

Apesar de os metabólitos secundários serem controlados geneticamente (Trapp & Croteau, 2001), as citações a seguir demonstram a variação em

função do órgão da planta, localidade geográfica, método de extração, ou seja, esses fatores merecem atenção quando se pretende obter produtos naturais (óleos essenciais) de boa qualidade.

Com *Ocimum micranthum* Willd., Charles et al. (1990) obtiveram para folhas, flores e caules os seguintes percentuais de rendimento de óleo essencial: 1,54; 0,63 e 0,08, respectivamente. O eugenol e 1,8-cineol foram os compostos majoritários presentes nas folhas, e apenas traços nas flores e caules. Por outro lado, β -selineno teve maior percentual nas folhas e caules, enquanto decresceu nas flores.

Chalchat et al. (1999), com vários acessos de *Ocimum basilicum* L. oriundos de várias regiões de Mali, caracterizaram esses em dois grandes grupos de quimiotipos, ou seja, os óleos contendo mais de 60 % de linalol e aqueles com menos desse valor. Para os que apresentaram acima de 60 %, quatro subtipos puderam ser distinguidos: linalol, linalol - eugenol, linalol - metil-chavicol e linalol - metil-eugenol. Para o segundo grupo, três subtipos foram identificados, a saber: metil-chavicol, eugenol e metil-eugenol. Ainda esses autores (1999), agora com vários acessos de *Ocimum canum* Sims., também de Mali, identificaram dois novos quimiotipos, um rico em α -terpineol e o outro em metil-chavicol- α -terpineol, até então não registrados na literatura.

Para um híbrido (RRL-OC-11) de *Ocimum canum*, Gupta & Tava (1997) constataram que o linalol foi o constituinte majoritário com 74,3%, enquanto que os parentais tiveram 63,2% deste composto. Segundo os autores, a presença de linalil acetato, α -terpineol, α -thujona, mirceno e (2) β -ocimeno valorizam o óleo essencial, enquanto a presença de α e β -selineno e trans- α -bergamoteno tem efeito negativo no odor do óleo, embora o

híbrido os mostrou em menor percentual em comparação ao material original, tornando-o superior em termos de valor de perfumaria produzido na Índia.

Em Cuba, Pino et al. (1998) obtiveram na parte aérea (caules e folhas) de *Ocimum tenuiflorum* L. um rendimento de 1,6% para óleo essencial. Este foi pobre em monoterpenos (< 2,0 %) e os compostos majoritários foram eugenol (34,3 %), β -elemeno (18,0 %) e β -cariofileno (23, 1%).

Nas condições do Ceará, Brasil, Silva et al. (1998) verificaram que em *Ocimum basilicum* var. *purpurascens* Benth., o principal componente do óleo essencial de folhas e inflorescências foi o linalol, com 39,3 % (destilação a vapor – rendimento de 0,5 %) e 79,6 % (destilação por microondas – rendimento de 0,1 %) e 81,54 % (inflorescências) por traços. Os mesmos autores obtiveram 3,05 % de rendimento de óleo para folhas de *Ocimum micranthum*, com eugenol e β -cariofileno apresentando os seguintes valores: 44,8 % e 14,7 %, respectivamente. Nas inflorescências, os componentes majoritários foram elemicina (32,9 %) e eugenol (14,0 %).

Ainda no Ceará (Brasil), Machado et al. (1999) com *Ocimum tenuiflorum* L. constataram que o rendimento de óleo essencial para folhas foi maior quando usavam destilação a vapor (2,5 %) contra 1,1 % para a técnica usando microondas. Já as inflorescências em ambos os métodos apresentaram o mesmo valor (0,3 %). O eugenol foi o principal constituinte das folhas (79,0 % para destilação a vapor e 82,7 % para microondas), com β -cariofileno (9,8 e 7,9 %) vindo em seguida. Nas inflorescências, o eugenol também foi majoritário, apresentando 60,0 % para o primeiro método, mas somente 17,6% para o

segundo, com β -cariofileno revelando os seguintes valores, 40,7 e 24,5 %, respectivamente, vindo em seguida o óxido de cariofileno, com 18,5 e 5,9 %, respectivamente.

Estudando uma espécie nativa do Brasil (*Ocimum selloi* Benth.), Moraes et al. (2002) obtiveram em folhas coletadas em junho (inverno) de 2000 e janeiro (verão) de 2001 os seguintes rendimentos para óleo essencial: 0,25 % e 0,20 %. Por outro lado, as inflorescências (contendo flores e sementes) revelaram um rendimento de 0,6 %. Para as partes da planta estudadas, os constituintes majoritários foram o trans-anetol e metilchavicol. Em 2001, ambos os compostos mostraram valores superiores em comparação ao ano anterior, quando estes foram provenientes das folhas.

4.3. Aspectos gerais de *Ocimum gratissimum*

A alfavaca-cravo é o nome dado a uma variedade importada de *Ocimum gratissimum*, conhecida como quimiotipo *eugenol*. Esta última designação refere-se ao constituinte principal do seu óleo, que pelo seu cheiro típico, lembra o cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thumb.) (Matos, 1998). É um arbusto lenhoso, que pode chegar a mais de 1,5 m de altura, apresentando flores e frutículos dispostos em numerosas inflorescências eretas típicas do gênero. É originária da África e subspontânea em todo o Brasil (Cerri, 1995).

Pode-se citar ainda como importância da espécie, que a importação brasileira de eugenol gira em torno de 10.000 kg/ano, a um custo aproximado de U\$ 10.00/kg (Craveiro et al., 1981).

Matos (1998) recomenda o uso de alfavaca-cravo como aromatizante bucal, pois o eugenol presente no seu óleo essencial confere ação anti-séptica local contra alguns fungos (*Aspergillus* e *Trichoderma*) e bactéria (*Staphylococcus*). Já folhas, flores e frutos secos e pulverizados se constituem em excelente mistura para temperos de carnes.

Na indústria farmacêutica, o eugenol é utilizado por sua ação anestésica local em medicação odontológica (Craveiro, 1981 e The Index Merck, 1989). Em estudos farmacológicos o eugenol mostrou-se possuir efeito depressor sobre o sistema nervoso central, provocando sonolência e estado de inconsciência (Oliveira, 1978), assim como a ação retardante sobre o desenvolvimento pupal de *Drosophila melanogaster* e *Tribolium castaneum* (Bhattacharya & Bordoloi, 1986) e ação anti-microbiana em *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton mentagrophytus* (Gulati & Sinha, 1990 e Ndounga & Ouamba, 1997).

Quimicamente, o eugenol é o 2-metoxi-4-(2-propenil)fenol, com fórmula molecular: $C_{10}H_{12}O_2$ e massa molecular de 164 u.m.a. A contribuição percentual de Carbono (C), Hidrogênio (H) e Oxigênio (O) é , respectivamente: 73,14%; 7,37% e 19,49%. É um líquido incolor, apresentando odor de cravo e sabor picante. O ponto de ebulição (pe) é: $-9,2^{\circ}$ a $-9,1^{\circ}$, com a densidade (d_{4}^{20}) de 1,0664 e o índice de refração (n_D^{20}) de 1,5410. É um líquido praticamente insolúvel em água, mas miscível em álcool, clorofórmio, éter e óleos. Um mL dissolve-se em 2 mL de álcool a 70% e também é solúvel em ácido acético glacial. A dose letal (LD₅₀) oral em ratos é de 2680-3000 mg/kg. O eugenol é usado em perfumaria e também como atrativo de inseto. Para os humanos, o eugenol está na categoria terapêutica de analgésico (dental) (Guenter, 1943 e The Index Merck, 1989).

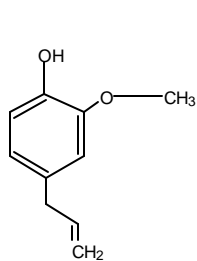
Outros constituintes de percentual expressivo encontrados no óleo essencial desta espécie estão contidos no quadro a seguir, com algumas características.

Quadro 2. Componentes do óleo essencial de alfavaca-cravo mostrando propriedades como massa molecular, fórmula química e uso.

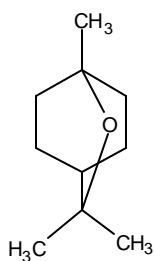
Substância	Sinônimo	Massa Molecular	Fórmula	Uso
1,8-cineol	eucaliptol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	Odorizante, repelente de barata
trans-cariofileno	-	204	C ₁₅ H ₂₄	Perfumaria
cis-ocimeno	-	136	C ₁₀ H ₁₆	-
α-selineno	-	204	C ₁₅ H ₂₄	-
β-selineno	-	204	C ₁₅ H ₂₄	-
óxido de cariofileno	-	220	C ₁₅ H ₂₄ O	-

Fonte: Adams, 1995, Guenter, 1943 e The Index Merck, 1998.

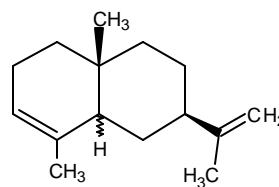
Na figura 1 estão representadas as fórmulas estruturais dos compostos dos óleos essenciais das folhas e inflorescências avaliados neste estudo.



eugenol



1,8 cineole



alfa-selineno

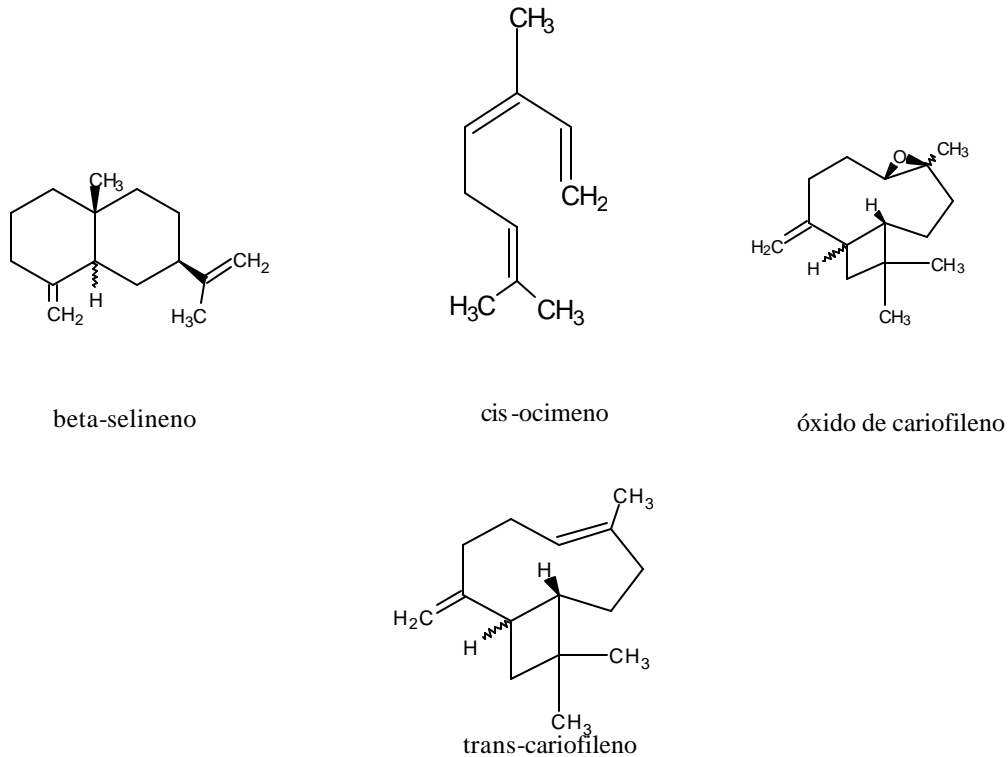


Figura 1. Fórmulas estruturais dos compostos do óleo essencial das folhas e inflorescências avaliados neste estudo. UNESP/Botucatu – SP, 2002.

Embora esta espécie tenha essa importância para o país, poucas investigações foram realizadas nas nossas condições, destacando-se apenas os trabalhos de Cruz et al. (2001), Innecco et al. (1998), Maia et al. (2001) e Vostrowsky et al. (1990). Por outro lado, essa espécie tem sido objeto de pesquisas por vários autores estrangeiros, como demonstrado a seguir, nos trabalhos com óleos essenciais.

Guenter (1943) já havia descrito três tipos de *Ocimum gratissimum*, quais sejam: timol, eugenol e citral. O tipo timol foi cultivado em Dabakala (Costa do Marfim)

com rendimento de óleo essencial de 0,6 % e o teor de timol variando de 23 a 44 %. O tipo eugenol, completamente diferente, continha esse composto variando de 55 a 89 %, com rendimento de 0,1 %. O tipo citral, nativo da Pérsia, Punjab, East Bengal, Nepal e Península Deccan, teve rendimento de 0,1 %, com 66,6 % de citral.

Em Ruanda, Ntezurubanza et al. (1987), com *Ocimum gratissimum*, através das análises de LSC, GLC e GC-MS, encontraram para timol 35% e eugenol 11%, sugerindo os autores tratar-se de um novo quimotipo. O óleo essencial ainda continha 42 % de hidrocarbonetos, incluindo 18 % de p-cimeno.

Ndounga & Ouamba (1997) verificaram que o óleo essencial hidrodestilado de folhas de alfavaca (*O. gratissimum*), oriundo do Congo tinha como principal constituinte o timol.

Por outro lado, nas condições da Amazônia Brasileira, Vostrowsky et al. (1990), ainda com *O. gratissimum*, analisaram o óleo essencial através de CG, CG/EM e RMN, identificando nas folhas e caules como principais constituintes metil-eugenol (46,38 %) e eugenol (19,26 %), respectivamente.

Em folhas de *O. gratissimum* (tipo eugenol), Colson et al. (1991) descreveram a presença de tricomas glandulares com cabeça de 2, 3 e 4 células, tricomas não glandulares. O eugenol foi o principal constituinte, principalmente no óleo da flor (57-68 %), seguido do óleo da folha (43-56 %) e óleo dos brotos (40-48 %).

Já Charles & Simon (1992) para folhas, flores e caules de *O. gratissimum* obtiveram os seguintes percentuais: 1,34; 1,49 e 0,14 %, respectivamente. De 50 constituintes identificados, o principal foi geraniol (83,7 – 88,8 %), aparecendo ainda gamma-muuroleno (1,58 – 3,88 %), cariofileno (1,2 – 2,29 %), neral (1,35 – 3,82 %) e limoneno (0,74

– 1,91 %). A composição do óleo essencial foi similar entre as partes estudadas da planta. Devido à presença desta nova substância, os autores propuseram que tratava-se de um novo quimiotipo, com óleo essencial rico em geraniol.

Os mesmos autores, em 1983, observaram em folhas deste mesmo quimiotipo, que a percentagem de geraniol no óleo aumentou de 51,6 % nas folhas jovens e para 73,3% em folhas maduras, enquanto decresceu para 64,2 % em folhas senescentes. O conteúdo de sesquiterpenos foi 42,9; 20,2 e 26,9 % em folhas jovens, maduras e senescentes, respectivamente. Mais de 17 compostos foram identificados no óleo presente em todos os estágios de desenvolvimento da folha.

Já em folhas e flores de *O. gratissimum*, cultivada em Havana (Cuba), Pino et al. (1996) verificaram que a composição dos óleos foi qualitativamente similar, mas quantitativamente diferente. Os principais constituintes dos óleos essenciais de folhas e flores foram p-cimeno (14,0 e 12,89 %, respectivamente) e timol (19,35 e 27,33 %, respectivamente). Yayi et al. (1999) em oito acessos selvagens de *O. gratissimum*, encontraram o rendimento de óleo essencial variando de 0,2 a 0,9 %. A análise deste revelou como principais constituintes γ -terpineno, p-cimeno e timol, nesta ordem.

Mas outras áreas da pesquisa também têm sido investigadas, como por exemplo, espaçamento e densidade de plantio, através de pesquisa de Umesha et al. (1990), época de colheita com Gupta (1996), Pillai & Chinamma (1995) e Sanda et al. (2001), data de plantio, com Choudhury & Bordoloi (1986), efeito de poda, com Balyan, Ajit Singh (1992), e com adubação, as pesquisas de Balyan & Sobti (1990) e Choudhury et al. (1986), caracterização química (Vieira et al., 2001).

4.4. Aspectos Gerais de Cultivo

Nas condições brasileiras, a maioria das plantas medicinais não é ainda cultivada, mas coletada através do extrativismo e a grande parte das espécies cultivadas encontra-se no estágio inicial de domesticação, não estando sistematicamente investigada. Este extrativismo dispensa os esforços e despesas do cultivo, porém provoca a degradação do ecossistema, a baixa qualidade do material e diversificação de produto.

No que se refere à tecnologia empregada no cultivo das plantas medicinais, que é essencialmente similar às utilizadas na produção de outras culturas, podem existir problemas fitotécnicos usuais como irrigação, fertilidade de solo, ataque de pragas e doenças e, principalmente, as influências ambientais externas que resultam muitas vezes na formação de diversos constituintes químicos em diferentes proporções ou em um reduzido rendimento dos princípios ativos. (Bustamante, 1993; Correa Jr. et al, 1996 e Martins, 2000). Estes fatores que condicionam as plantas a esta situação requerem do homem uma busca incessante na tentativa de elucidar e a partir daí lançar estratégias para obtenção e maximização do produto a ser adquirido. Inúmeras são as formas que o mesmo pode lançar para conseguir este objetivo.

Dentre estas formas de ação, estão aquelas em submeter as plantas as mais diferentes condições, na tentativa de conseguir o maior retorno e controle sobre os seus derivados secundários. Inúmeros são os níveis de pesquisa envolvidos no cultivo. Serão citados apenas alguns para se ter noção e possibilitar o entendimento em que avanço se encontram as pesquisas referentes ao cultivo de algumas espécies medicinais.

4.4.1 Época de Colheita

Em 1943, Guenter já mencionava estudos com época de colheita, pois o mesmo, ao acompanhar a dinâmica de acumulação do óleo essencial e de eugenol, verificou que o máximo florescimento coincidiu com o ponto ótimo de colheita em *O. gratissimum*, estando o óleo contido principalmente nas folhas e flores, e o eugenol apresentou um percentual de 70 %. Após 1-2 dias deste evento fenológico o teor de eugenol diminuiu, e quanto mais tempo se distanciava isso ficou mais evidente, pois após 11 dias o teor de eugenol reduziu para 10 %.

Com esta mesma espécie, Choudhury & Bordoloi (1986) em Assam, Índia, constataram que o corte realizado em plantas que se desenvolveram em condições de altas temperaturas, umidade e chuva (junho a outubro), produziram biomassa maior, assim como rendimento de óleo essencial (0,70 %). Os cortes subsequentes produziram biomassa abaixo do encontrado anteriormente, onde predominaram baixas temperaturas. O teor de eugenol seguiu o mesmo padrão em relação às temperaturas mais altas.

Pillai & Chinnamma (1995), estudando *Clocimum*, um novo quimiotipo de *O. gratissimum*, verificaram que, após um corte uniforme aos 90 dias do plantio, o melhor intervalo de corte foi aos 60-70 dias desta prática, com as máximas produções de massa verde e óleo essencial (produção e percentual de eugenol), isto é, quando as plantas se apresentavam no máximo florescimento. O avanço no intervalo de colheita (90, 105 e 120 dias) tendeu a um decréscimo nos parâmetros analisados.

Com várias espécies/variedades (quimiotipos) de *Ocimum* colhidas em vários estágios ontogenéticos, Gupta (1996) constatou que para *O. gratissimum* quimiotipo

eugenol, a máxima produção/planta (820 g em base seca) foi entre 150-180 dias do transplântio, correspondendo ao início da formação da semente. Para produção de óleo, isto foi alcançado aos 210 dias, quando 50 % das plantas já apresentavam sementes desenvolvidas. Para o eugenol, principal constituinte majoritário, o ponto de máxima concentração foi de 180-210 dias do mencionado evento.

Innecco et al. (1998) estudando a época de corte e espaçamento de *O. gratissimum*, nas condições do Ceará (Brasil), constataram que a mesma deve ser plantada no espaçamento de 0,8 m x 1,0 m, obtendo-se as seguintes produções: massa verde (12,84 t/ha), matéria seca (4,31 t/ha), óleo essencial (56,44 l/ha) e eugenol (29,81 l/ha).

Práticas de colheita mostraram que é possível fazer quatro cortes no ano, com intervalos de 90 dias, e isto proporcionou significativamente alta produção de massa verde e de óleo essencial quando em comparação com grande número de colheitas no ano (5 a 8). Colheitas durante a estação úmida e quente (junho a outubro) acarretaram maiores produções de massa verde, óleo essencial e eugenol, quando comparadas com a estação seca e fria (novembro a maio) Choudhury et al. (1988).

Utilizando vários espaçamentos em *O. gratissimum*, nas condições da Índia, Umesha et al. (1990) verificaram que a maior densidade de plantio (30 cm x 20 cm; 166700 pl/ha) ocasionou as máximas produções de folhas, inflorescências, óleo essencial (265,75 kg/ha) e eugenol (210,74 kg/ha), embora com valores mínimos para área foliar e acúmulo de matéria seca.

Balyan & Singh (1992) durante 7 anos de estudos com esta espécie mostraram que é viável economicamente o efeito de podas na produção de massa verde, óleo essencial e madeira fresca, após o plantio. A poda realizada ao nível do solo ou a 10 cm

proporcionou as mais altas produções de massa verde e óleo no 2º, 3º, 4º e 5º anos e houve incremento significativo na produção de peso fresco de caule.

Ainda com esta espécie, Cruz et al. (2001), ao realizarem 06 cortes sendo o primeira com 120 dias de idade e com intervalos regulares de 45 dias, verificaram que no terceiro corte (210 dias) a produção de matéria seca (ramos + folhas + inflorescências) foi máxima (5,5 t/ha) enquanto a produção de óleo (l/ha) já foi alcançada no segundo corte, com 166,72 l/ha.

Sanda et al. (2001) verificaram que o rendimento de *O. gratissimum* em folhas frescas permaneceu relativamente constante, em torno de 0,16 %, durante 05 meses de cultivo. Até os 03 meses p-cimeno (23,0 %) foi o principal constituinte, enquanto nos dois últimos meses timol (27-30 %) foi o constituinte majoritário. Para *O. basilicum* até o 4º mês o teor de óleo foi 0,26 %, mas decresceu drasticamente para 0,14 %, do último mês de estudo. O principal constituinte foi o estragol que permaneceu praticamente constante durante a pesquisa (81-83 %).

Outras espécies deste mesmo gênero e também de outros gêneros tem sido pesquisadas em relação às épocas de corte.

Pal (1990) estudou *O. viride* Willd. nos vários estágios de desenvolvimento desta espécie (vegetativo e reprodutivo - florescimento: início, 50% e total; formação da semente: início e final), avaliando produção/planta, relação folha/caule, conteúdos de óleo e timol. O mesmo constatou que a alta produção de matéria fresca/planta (515 g) foi obtida no estágio inicial de formação da semente; já a produção de óleo (0,40 %)

ocorreu nos estágios de 50 % e florescimento total, com o timol (55,12 %) apenas no florescimento total.

Donalísio et al. (1971) obtiveram maiores produções anuais de biomassa e óleo essencial e de citral em capim-limão (*Cymbopogon citratus* [D.C.] Stapf.), numa frequência de 3 cortes anuais nos meses de fevereiro, junho e outubro.

Em trabalho com *Mentha piperita* L. verificando 13 épocas de corte ao longo do desenvolvimento ontogenético, White et al. (1987) mostraram a variação na produção de óleo essencial e dos seus principais constituintes químicos (mentol/mentona), assim como o efeito do fotoperíodo na produção e composição desta mesma espécie. Já Clark & Menary (1979), com esta mesma espécie apontaram que sob condições de dia longo há um aumento no rendimento de matéria seca, óleo essencial e na sua composição.

Ao destilarem folhas de *Eucalyptus citriodora* Hk. durante um ano, a intervalos mensais, Kapur et al. (1982) verificaram que a produção de óleo essencial foi mínima durante os meses de inverno (junho e julho), mas após as monções aumenta gradualmente e permanece assim até os meses de setembro, outubro e novembro e alcança o máximo de produção durante os meses mais quentes (dezembro a fevereiro). Observaram que houve um pequeno declínio nos meses de março e abril. O teor de citronelal foi baixo em maio e junho, mas permaneceu alto nos outros meses do ano.

Nas condições de Portugal, Cunha & Roque (1986), considerando a primavera, verificaram em *Rosmarinus officinalis* L., que em colheitas realizadas antes (março), durante (abril) e final da floração (maio – flor já caiu praticamente toda) que o rendimento aumentou à medida que avançou o período da primavera, assim como a

percentagem de álcoois expressa em borneol. O teor de mirceno (constituente majoritário) foi maior antes da floração, decrescendo durante esta e voltando a crescer um pouco após a floração.

Özgülven & Stahl-Biskup (1989) verificaram que *Origanum vulgare* L. produz mais biomassa em localidade situada ao nível do mar quando comparada com outras regiões localizadas a 1200 m desse ponto de referência. Em relação a fase de desenvolvimento, em ambas as localidades, a produção foi maior após o florescimento, assim como para o segundo ano de estudo (1988). O rendimento de óleo essencial teve comportamento em termos de crescimento à medida que a planta avança no seu desenvolvimento, com o segundo ano agrícola mostrando maior rendimento, assim como as plantas oriundas de maior altitude. Em relação aos seus componentes, a proporção variou em função da fase de desenvolvimento da safra agrícola e também da altitude.

Para Lammerinck et al. (1989), o ponto ótimo de colheita foi em torno do pleno florescimento visando óleo essencial em *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. Neste ponto, a produção de óleo essencial por inflorescências e por planta tendeu a crescer durante o florescimento, mas isto foi contido pela senescência e perda (queda) das flores. A percentagem de monoterpenos e 1,8-cineol decresceu durante o florescimento.

Para Larcher (1989), o melhor ponto de colheita visando o conteúdo de vanilina foi obtido quando se atrasa a colheita em vagens de *Vanilla tahitensis* J. W. Moore. Isso também se confirmou para os demais constituintes aromáticos, com exceção para ácido anísico. Esta prática melhorou a qualidade da vanilina destinada ao mercado.

Durante dois anos de estudo com *Nepeta cataria* var. *citriodora* Balb., Hornok et al. (1992) constataram que as maiores produções de matéria seca (kg/10 m²) foram

obtidas no segundo ano de estudo (1989), os maiores rendimentos de óleo essencial ocorreram no primeiro ano (1988). Estes resultados foram obtidos quando as plantas se encontravam nos estádios compreendidos entre o início e completo florescimento, para os dois anos de estudo. O percentual de citronelal aumentou até o pleno florescimento, mas depois decresceu, para ambos os anos.

Németh et al. (1993) estudando espécies selvagens de *Achillea crithmifolia* W. et K. sobre diferentes condições ambientais e fases de desenvolvimento da espécie, verificaram que a proporção de cânfora no óleo essencial decresceu à medida que a planta avançou nas suas fases fenológicas, quando a mesma se encontrava em ambiente quente ou frio. Para 1,8-cineol, o comportamento foi o contrário.

Testando densidade de plantio e época de colheita em sálvia (*Salvia officinalis* L.), Picaglia et al. (1997) verificaram que a colheita na estação primavera – primeiro corte realizado na primavera (estágio de florescimento) resultou alta produção de biomassa fresca e seca, embora a produção de óleo essencial não foi afetada pela densidade de plantio. Para a composição do óleo essencial, quando as plantas estavam na fase vegetativa os teores de α e β -tujona foram superiores quando em relação ao florescimento. Ainda na fase vegetativa, as plantas colhidas em abril apresentaram baixo teor de α e β -tujona quando comparadas com as de outubro. Segundo os autores isso pode ser devido a dias curtos e baixas temperaturas no período do outono.

Acompanhando a variação sazonal no óleo essencial de folhas de *Virola surinamensis* Warb. nas condições da Amazônia brasileira, Lopes et al. (1997) constataram que nas três épocas de estudo (fevereiro – estação chuvosa, junho – estação seca e

outubro – início das chuvas), o teor de óleo praticamente não variou, situando-se em torno de 0,5 %. O teor total de monoterpenos (α -pineno e limoneno como principais componentes) foi maior por ocasião da estação seca, quando a planta inicia a fase de florescimento. Os sesquiterpenos (principal composto foi o cariofileno) permanecem em baixos níveis até o final da estação seca, e a partir daí com o início da formação do fruto aumentaram até 50 %. Já os fenilpropanóides (metil-eugenol e elemicina) em fevereiro alcançam seu maior percentual e decrescem à medida que a planta entra na fase reprodutiva.

Maiores produções de massa fresca e de óleo essencial em *Pelargonium graveolens* L. cv. Bipula, cultivado em pH variando de 4,9 a 9,6, quando comparada com a cv. Hemanti foram constatadas por Ram et al. (1997), nas condições da Índia.

Putievsky et al. (1998) trabalhando com *Origanum vulgare* L. por 3 anos, em Israel, comprovou que houve influência da fenologia e estação climática no óleo essencial, pois ao colherem no florescimento houve um aumento no rendimento de óleo (verão), enquanto na primavera e outono decresceu. A proporção de timol e γ -terpineno variou também, pois no florescimento, o aumento do timol significou um decréscimo no γ -terpineno e para plantas não floridas, o timol aumentou na primavera e no verão decresceu, voltando a crescer no outono; para o γ -terpineno o comportamento ocorreu no sentido inverso. Os dois principais componentes do óleo essencial (p-cimeno e carvacrol) não tiveram influência do florescimento e nem da estação climática.

Verificando a influência das condições climáticas, Czapak (1998) com *Mentha arvensis* L., no Paraná/Brasil, concluiu que no inverno as temperaturas e insolação,

por serem menores, causam diminuição no crescimento da planta e redução na produção de óleo bruto e mentol. Colheitas entre 60 e 70 dias foram as que produziram o maior volume de óleo essencial e mentol cristalizável ao longo de um ano de colheitas.

Cruz et al. (2001) concluíram que o alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) nas condições do Ceará/Brasil, suporta até oito cortes a intervalos de 45 dias a partir do primeiro corte realizado a 120 dias do transplântio, permitindo dessa forma uma produção linear de óleo essencial até o oitavo corte, quando decresce a partir de então.

Nas condições de Botucatu – SP, Blanco (2001) verificou que as melhores épocas de colheita (estas colheitas foram realizadas por ocasião do final das estações climáticas) para *Rosmarinus officinalis* foram nas estações de inverno, primavera e verão. Neste ano agrícola a umidade relativa e as temperaturas, sugere a autora, foram os fatores determinantes para que estas estações proporcionassem os melhores resultados para teor de óleo essencial, pois no outono (baixa temperatura, embora alta umidade) e inverno (temperatura em elevação e baixa umidade) resultaram que fossem obtidos o menor e maior teor para óleo essencial, respectivamente. Para os dois constituintes químicos majoritários (cânfora e 1,8-cineol) a mesma constatou os maiores percentuais na primavera e verão para cânfora, já 1,8-cineol foi maior na primavera e inverno.

4.5 Adubação em plantas medicinais

A disponibilidade de nutrientes durante o ciclo de vida das plantas é uma das condições a serem obedecidas quando se pretende obter maiores produções, levando em conta a composição dos produtos oriundos destas colheitas. Esses nutrientes podem estar

disponíveis em adubos de origem orgânica ou mineral. Segundo Kiehl (1985), as matérias-primas empregadas como fertilizantes orgânicos podem ser de natureza vegetal (restos de cultura, outros restos de vegetais e adubos verdes); animal (esterco e outros resíduos de animais tais como vísceras, ossos e sangue) e de natureza mista (composto, vermicomposto, etc.).

As plantas medicinais, de um modo geral, apresentam melhor desenvolvimento onde os solos possuem características físicas favoráveis para a expansão do sistema radicular. Correa Jr. et al. (1991); Maldueño Box (1973) e Mattos (1996) sugerem que a adubação orgânica, o cultivo mínimo e as práticas de agricultura alternativa em espécies medicinais, aromáticas e condimentares, podem possibilitar o desenvolvimento de plantas mais resistentes às pragas e doenças, tendo como consequência menor utilização de produtos químicos, que neste caso podem comprometer a composição química da planta, alterando ou mesmo inviabilizando o seu uso como medicinal.

A prática da adubação orgânica proporciona melhoria da estrutura física do solo, aumenta a retenção de água, diminui perdas por erosão, favorece o controle biológico devido a maior população microbiana e melhora a capacidade tampão do solo, possui na sua composição, os macros e micronutrientes em quantidades bem equilibradas, que as plantas absorvem conforme sua necessidade, em quantidade e qualidade (Lopes, 1989 e Almeida, 1991).

Há uma escassez de pesquisas em plantas medicinais em relação à adubação, principalmente orgânica, como se pode constatar com as referências a seguir, e mais precisamente com espécies arbustivas perenes, com é o caso de *O. gratissimum*.

Em estudo usando adubação mineral, Balian & Sobti (1990) ao aplicarem doses de N-P-K nesta mesma espécie, constataram que as produções de matérias fresca e seca/planta, matéria seca/ha aumentaram quando a dose de N e P foi de 80 kg/ha, mas estes parâmetros não foram significativos para o K (0, 40 e 80 kg/ha), sugerindo que o solo o possuía em quantidade suficiente.

Choudhury et al. (1988) adotaram vários experimentos de campo visando otimizar os parâmetros de produção em *O. gratissimum* nas condições de Assam, Índia. De 4 níveis de pH do solo (4,5 - 5,5 - 6,5 e 7,5), o mais alto resultou nas máximas produções de massa verde (72,25 t/ha) e de óleo (410,53 kg/ha); embora o percentual de eugenol (70,4 % e 72,2 %) não foi significativamente afetado pela aplicação de calcário.

Choudhury et al. (1986) com aplicação foliar de micronutrientes também nesta espécie verificaram que 50 ppm de Mo resultou em alta produção de biomassa, já o máximo rendimento de óleo essencial foi observado na presença de 50 ppm de Zn, enquanto o maior percentual de eugenol (72,8 %) foi com 25 ppm de Mo.

Ao cultivarem *O. gratissimum* em cultivo hidropônico, Maia et al. (2001) verificaram que aos 88 dias, o teor de eugenol foi maior, sendo apropriada a colheita com essa idade. Quanto ao comportamento da espécie frente aos nutrientes da solução, os mesmos verificaram que se o objetivo for óleo essencial com alta concentração de eugenol, o ideal é a colheita do tratamento controle (completo – Sarruge, 1975), porém se for maior produção de folhas, um aumento na concentração de N na solução acompanhada de um aumento proporcional de Mg deve ser adotado, desde que não se ultrapasse os limites tolerantes da cultura.

Hornok (1983) ao utilizar 04 níveis de N (0, 80, 160 e 240 kg/ha), 04 de P (0, 50, 100 e 150 kg/ha) e 04 de K (0, 60, 120 e 180 kg/ha) em *Ocimum basilicum*, observou que o teor de óleo essencial aumentou proporcionalmente com os níveis de N, P e K. Os dois constituintes majoritários (linalol e estragol) mostraram comportamento diferente em relação aos níveis de nutrientes utilizados, pois enquanto o estragol não variou com os nutrientes e nem dentro dos níveis destes, o linalol à medida que aumentou o nível de N, decresceu o seu percentual; para o P o teor deste constituinte aumentou até a dose P1 e em seguida decresceu, enquanto o K contrariamente ao N, proporcionou aumento no teor de linalol à medida que aumentou de 0 para 180 kg/ha de K.

Estudando a identificação de dois acessos de *Ocimum selloi* Benth. em relação ao uso de caracteres morfológicos e químicos, Martins (1996) comenta que há o desconhecimento das exigências nutricionais desta espécie e na ocasião aplicou 10.000 kg/ha de esterco de galinha decomposto, quando este adubo orgânico utilizado apresentava 70 % de matéria seca.

Furlan (2000) com *Ocimum basilicum* cultivar Genovese, estudando a fenologia, verificou que após a 20^a semana apresentou caules e ramos lenhosos, com perda acentuada de folhas. A colheita pode ser efetuada logo após o florescimento que ocorreu por volta da 12^a semana. Com o avanço do florescimento há uma grande redução da biomassa foliar. Os macronutrientes (nas formas N, P₂O₅ e K₂O) nas doses testadas não promoveram diferenças significativas nos constituintes do óleo essencial desta espécie, sendo o linalol a substância encontrada com maior teor.

Com esta mesma cultivar, Silva et al. (2001) verificaram que adubação apenas com NPK produziu maior biomassa seca, embora o teor de óleo essencial não tenha

vido superior em relação às demais adubações. Estes teores foram máximos com esterco de aves e esterco de aves adicionado de NPK. Por outro lado, o esterco bovino mostrou-se inferior a todos os outros tratamentos, mas com adição de NPK, pelo menos a biomassa não diferiu dos demais, demonstrando ser esta espécie exigente em N.

Ao utilizarem plantas de *Eucalyptus torquata* Schauer e de *E. angulosa* Schauer com 08 meses de idade, Mahdi et al. (1987) constataram que estas ao receberem 03 níveis de N (0, 200 e 400 kg/ha) na forma de sulfato de amônia, o número de ramos aumentou significativamente apenas com a dose maior em ambas as espécies e em função das avaliações realizadas a intervalos de 03 meses. A percentagem de óleo essencial foi maior nos tratamentos que receberam o adubo, com 2,65 % para *E. torquata* e 2,30 % para a outra espécie, embora não tenha havido diferença significativa para ambas. Os 03 principais compostos do óleo essencial foram cineol, citronelal e citronelol. O teor de cineol aumentou nas duas espécies até a dose de 200 kg, sendo que na colheita de julho a maior percentagem foi observada. Para citronelol houve aumento em função das doses utilizadas, nos meses de janeiro e abril revelando superioridade em relação às demais épocas do ano.

Ming (1996) não constatou incremento na produção de biomassa de caules e plantas inteiras no tratamento com adubação orgânica em comparação ao uso de calagem, adubo orgânico (esterco bovino curtido) e adubação mineral (4-14-8) em mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.). O teor de óleo essencial não apresentou diferença estatística em resposta a estes tratamentos.

Scheffer (1998) verificou que 3,0 kg/m² de adubo orgânico (composto de curral + palha) proporcionou maior incremento de biomassa e rendimento de óleo essencial (das extremidades floridas) de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.). Embora não tenha havido

diferença estatística para as doses de adubo, esta dose (3,0 kg/m²) proporcionou um incremento médio de 17 %, 13 % e 23 % em relação à dose 1,0 kg/m², enquanto à testemunha (ausência) este foi de 308 %.

Em camomila (*Chamomilla recutita* L.), Corrêa Jr. (1998) verificou que não houve influência de adubos orgânicos e químicos na produção de capítulos florais e nem no conteúdo de óleo essencial, embora tenha havido diferença entre as 06 colheitas realizadas. O adubo orgânico (40 t/ha) produziu mais na primeira colheita em relação aos demais e manteve-se com esse comportamento até a terceira colheita, decrescendo a partir daí. O nitrogênio na forma de sulfato de amônia proporcionou níveis crescentes na produção até a quinta colheita. Para os constituintes do óleo essencial, o camazuleno aumentou com o avanço das colheitas, enquanto o α -bisabolol teve comportamento contrário.

Com *Lippia alba* N. E. Br., Ming (1992) verificou que à medida que aumenta a quantidade de adubo orgânico, aumenta a produção de biomassa, com melhoras nos aspectos químicos, físicos e biológicos do solo, havendo uma grande resposta em crescimento vegetativo da cultura. Para rendimento de óleo essencial, houve uma relação inversa aos resultados de produção de biomassa.

Com a espécie arbustiva erva-baleeira (*Cordia verbenacea* L.), Arrigoni-Blank et al. (1999) concluíram que após 120 dias do transplântio, esta espécie em solos ácidos e de baixa fertilidade, a calagem e a adubação são essenciais para seu crescimento, pois a falta desses e a ausência de N, K e B causaram as maiores quedas na produção de folhas.

Silva et al. (2001) com carqueja amarga [*Baccharis trimera* (Less.) A.P. De Candolle] ao cultivá-la em 05 níveis de adubo orgânico (0, 5, 10, 20 e 30 % de esterco de curral – em presença e ausência de adubo químico) constataram que massa seca da parte aérea, na presença de adubação química, mostrou-se crescente até o nível de 20 %, e a partir daí decresceu, embora sendo superior aquela obtida na ausência de adubação química. Quanto ao teor de óleo essencial, quando não se utilizou nenhuma adubação, este foi maior.

Vieira et al. (2001) verificaram que em camomila (*Matricaria chamomilla* L.) as maiores massa secas de capítulos florais resultaram da maior dose de nitrogênio associada com elevadas doses de cama-de-aviário. Estes mesmos autores obtiveram os mesmos resultados com a aplicação de maiores doses de N ou P, nesta mesma espécie.

Ao efetuarem dois cortes, aos 6 e 12 meses após o plantio, em pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) Sousa et al. (2001) verificaram que no solo que recebeu calcário, as produções de matéria seca e de óleo essencial foram maiores, quando comparadas com o solo com acidez não corrigida. O P foi o nutriente que apresentou efeito mais pronunciado no aumento da produção de matéria seca.

Com *Artemisia annua* L., Prasad et al. (1998) encontraram menores produções de biomassa e produção de óleo essencial em solos com pH compreendidos entre 7,9 e 8,9, embora o rendimento de óleo essencial foi maior em solos ácidos (4,9 – 5,1).

Csizinszky (1999) verificou que em *Artemisia dracuncululus* L. a concentração de N, P e K foi alta na matéria seca produzida de ramos herbáceos de 4 colheitas, independente das doses de N (49, 98 e 147 kg/ha) e K (40, 80 e 120 kg/ha) utilizados no experimento. Já *Petroselinum crispum* apresentou alta concentração de Ca e Mg, mas baixa de

N, P e K. *Origanum majorana* L. e *Thymus vulgaris* L. apresentaram valores médios em relação ao N, P e K quando comparadas com as outras duas espécies.

Para Dragar & Menary (1995) soluções nutritivas contendo baixas concentrações de N resultaram em baixas taxas de crescimento, mas favoreceu alto rendimento de óleo essencial, enquanto soluções com baixas concentrações de P decresceram a relação de monoterpenos para sesquiterpenos em *Olearia phlogopappa* Labill. D.C.

Altos níveis de N na solução causaram aumento no peso de folhas de *Mentha arvensis*, embora tenha havido redução de óleo essencial com baixos níveis de mentol (Maia et al., 2001).

Com *Mentha piperita* L., Praszna et al. (1993) verificaram que à medida que a deficiência de N aumenta, há uma redução na produção de massa verde, teor de óleo essencial e teor de mentona, o mesmo ocorrendo para a deficiência de P, com exceção para mentol que aumentou. Em relação a K, essas variáveis foram pouco afetadas.

Estas considerações acima demonstram a escassez de pesquisas relativas à adubação orgânica, no que se refere a produção de metabólitos secundários.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Descrição do Local do Experimento

O estudo foi conduzido no Jardim de Plantas Medicinais do Departamento de Produção Vegetal/Setor Horticultura da Fazenda Experimental Lageado, pertencente a Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP - Botucatu (SP).

A Fazenda Experimental Lageado ocupa uma área de 940,4 ha e situa-se a 3 km da sede do município, o qual possui as seguintes coordenadas geográficas: 22° 30' a 23° 05' de latitude Sul e 48° 15' a 48° 52' de longitude W.Gr. A precipitação pluvial é de 1314 mm anuais de chuva, com temperatura média anual de 19,4 °C. O tipo climático, segundo Koeppen, é o Cwb (mesotérmico de inverno seco), com a temperatura média do mês

mais quente não ultrapassando 22°C, sendo julho o mês mais seco e mais frio. A estação seca vai de maio a setembro, e janeiro sendo o mês mais quente e úmido. O balanço hídrico, pelo método de Thornthwaite (1948) revela um déficit total de água de 290 mm anual (maio a setembro) e um excedente hídrico de 439 mm (outubro a abril). A altitude do município está em torno de 800m em relação ao nível do mar, com formação de Serra Geral e basaltos. Predominam os solos tipo terra roxa estruturada (TE) e litossolo-fase substrato basalto (Lib), segundo Carvalho et al. (1983).

O solo onde foi instalado o experimento foi classificado por Carvalho et al. (1983) como latossolo vermelho escuro e suas características químicas estão na Tabela 2.

Tabela 2: Características químicas do solo onde foi realizado o experimento. UNESP/Botucatu - SP, 1999.

pH	M. O.	P _{resina}	H + Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V
CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----mmol/dm ³ -----						%
5,1	18	13	38	2,0	27	13	42	80	53

Análise realizada no Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciência do Solo (FCA-UNESP/Botucatu-SP).

Em agosto de 1999 fez-se a correção da acidez do solo de acordo com as recomendações de Raij et al. (1985), elevando o V% para 70 .

5.2. Experimento: Adubação orgânica x Época de corte

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso, com parcelas subdivididas, com 04 repetições. As parcelas foram constituídas pelas doses de

adubo e as subparcelas pelos cortes, realizados no meio de cada estação climática. Utilizou-se adubo orgânico (esterco de poedeira curtido) nas dosagens (kg/m²): 0; 4; 8 e 12, com as seguintes características químicas (Tabela 3).

Tabela 3: Características químicas do esterco de poedeira utilizado no experimento. UNESP/Botucatu - SP, 2000.

Determinações analíticas	%
N total	2,52
P ₂ O ₅	4,30
K ₂ O	2,00
Umidade Total	6,00
M. O. (550 °C) (M. O. Total)	21,00
Carbono Total	11,70
Cálcio Total	10,18
Magnésio Total	0,48
Enxofre Total	0,22
	mg/kg
Zinco Total	258,00
Manganês Total	162,00
Cobre Total	44,00
Ferro Total	11.250,00
Sódio total	2800,00

pH (CaCl₂ 0,01M) 8,50

Relação C/N (C Total e N Total) 5/1

Análise realizada no Departamento de Recursos Naturais/Setor Ciência do Solo (FCA-UNESP/Botucatu-SP).

As sementes foram semeadas em agosto de 1999 em sacos de polietileno preto contendo solo local mais esterco bovino curtido na proporção 3:1. Utilizaram-se 05 sementes por saco, as quais germinaram 15 dias após a semeadura. No início de setembro de 1999 fez-se o desbaste, deixando apenas uma planta por saco. Estes permaneceram no ripado do Setor de Horticultura da semeadura até o plantio definitivo no campo (no início de janeiro de 2000), quando as mesmas tinham aproximadamente 30 cm de altura. Durante esse período de confecção da muda, a irrigação foi realizada através de nebulização.

O plantio das mudas com aproximadamente 30 cm de altura, foi realizado em covas preparadas manualmente, retirando-se o saco de polietileno e colocando apenas as mudas com o substrato. Aguardou-se em torno de 10 dias para que as mudas se estabelecessem no local definitivo. Decorrido esse período de tempo, aplicou-se o esterco de poedeira curtido entre as fileiras através de operação manual e incorporação com o uso de enxadas, tendo sido concluída essa operação no final de janeiro.

O espaçamento adotado entre fileiras foi de 1,0 m, com 0,8 m entre plantas. Cada parcela (com 05 fileiras), foi composta de 64,0 m² (5,0 m x 12,8 m) onde recebeu o tratamento principal (doses de adubo). Cada subparcela ocupou uma área de 16,0 m² (5,0 m x 3,2 m) onde foi efetuado o corte a cada estação climática (tratamentos secundários).

A área útil de cada subparcela foi constituída por 06 plantas, ficando 14 plantas para efeito de bordaduras.

A irrigação, quando necessária, foi realizada por meio de sistema de gotejamento localizado. Quando necessário fez-se, também, capina manual para eliminação de plantas competidoras.

Neste experimento foram utilizadas sementes oriundas do Setor de Plantas Mediciniais da Fazenda Experimental Vale do Curu (Pentecoste – CE) pertencente à Universidade Federal do Ceará (UFC), cuja espécie foi previamente identificada por Fernandes, A. e Matos, F. J. A. e está catalogada no Herbário Prisco Bezerra do Centro de Ciências da referida universidade, sob o número 14.778.

5.3. Variáveis Respostas

O corte das plantas da área útil foi realizado no meio de cada estação climática, correspondendo, respectivamente aos meses de maio, agosto e novembro de 2000 e fevereiro de 2001, o que equivale ao outono, inverno, primavera e verão. O corte foi efetuado a um altura de 30,0 cm em relação à superfície do solo. Após o corte, o material foi acondicionado em sacos plásticos e levado para o Laboratório de Análises de Plantas Mediciniais, do referido departamento. Fez-se manualmente a separação das folhas, inflorescências e caules com posterior pesagem dos mesmos em balança de 0,01 g de precisão.

5.3.1. Teor de Umidade das Folhas, Inflorescências e Caules

Para determinação da umidade dos componentes da planta, utilizaram-se duas amostras de 50,0 g, que foram levadas à estufa a 65 °C até peso constante (\pm 04 dias). Decorrido esse tempo, calculou-se esta variável através da seguinte fórmula.

$$\%U = \frac{PI - PF}{PI} \times 100; \text{ onde:}$$

PI

PI- peso do material fresco;

PF- peso do material seco.

5.3.2. Produção de Matéria Seca de Folhas, Inflorescências e Caules

De posse desta variável, calculou-se, em base seca, a produção (g/06 plantas) de folhas, caules, inflorescências e produção total.

5.3.3. Relação Caules/(Folhas + Inflorescências)

Determinou-se também a relação da produção de caule sobre o somatório das produções de folhas e inflorescências $[C/(F+I)]$.

5.3.4. Rendimento e Produção de Óleo Essencial de Folhas e Inflorescências

O rendimento de óleo essencial foi calculado em folhas e inflorescências (entendendo-se que por ocasião das avaliações, estas apresentavam as estruturas morfológicas da fase reprodutiva, ou seja, botão floral, flores em antese e frutos).

As folhas foram armazenadas em freezer, enquanto que as inflorescências, após terem sido secas a 40° C em estufa até peso constante (\pm 04 dias), foram armazenadas em câmara seca. As extrações foram realizadas através de hidrodestilação, com o uso de Aparelho Tipo Clevenger. Para folhas utilizaram-se duas amostras de 100,0 g/subparcela de folhas frescas retiradas do freezer e colocadas em balão de fundo chato de 2000 mL, com junta esmerilhada 24/40 mm, sendo adicionada água destilada até imersão das mesmas, tendo em seguida iniciado-se o processo de extração, através do arraste do óleo essencial pelo vapor d'água. Para as inflorescências, também utilizaram-se duas amostras/subparcela, mas de 50,0 g, adotando-se o mesmo procedimento. Considerou-se como início do processo quando as primeiras gotas de óleo essencial desceram pelo condensador. Em ambos os casos, a extração permaneceu por 03 horas. Ao final desta, fez-se a leitura (mL) do volume do óleo essencial, para em seguida ser colhido e armazenado em vidro âmbar, estocado em freezer até o momento da análise da sua composição química.

O rendimento médio (das duas amostras/subparcela) das folhas e inflorescências foi calculado em base seca através da seguinte fórmula.

$$\text{Rendimento} = \frac{v \text{ (mL)}}{m \text{ (g)}} \times 100; \text{ onde:}$$

v = volume de óleo extraído; e

m = matéria seca.

Para o cálculo da produção multiplicou-se a produção obtida das folhas e inflorescências pelo rendimento do óleo essencial.

5.3.5. Composição Química do Óleo Essencial de Folhas e Inflorescências

As análises da composição química dos óleos essenciais foram conduzidas em Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas (CG-EM Shimadzu, QP-5000) equipado com coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25mmx 0,25 μ l), hélio como gás arraste (1,7 ml/min), split 1/30, injetor 240 °C e detector a 230 °C e o seguinte programa de temperatura: 50 °C (5 min) – 180 °C, 5 °C/min: 180 °C – 280 °C, detector a 230 °C e o seguinte programa de temperatura: 50 °C (5 min) – 180 °C, 10 °C/min. A identificação dos compostos foi efetuada por comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 libr.) e literatura (McLafferty & Stauffer, 1989) e se determinaram os índices de retenção de Kovats, comparando os mesmos com os da literatura (Adams, 1995). Esta etapa do estudo foi realizada no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

5.3.6. Teores e Extração de N, P e K em Folhas

Em cada colheita foi retirada uma amostra de folhas de aproximadamente 30,0 g para determinação dos teores de N, P e K, conforme recomendações

de Malavolta et al., 1997. De posse destes teores, determinou-se a quantidade desses elementos extraídos, através da multiplicação dos teores pela produção seca obtida para folhas. Os resultados foram expressos em g/06 plantas.

5.4. Rebrote

Na mesma área útil de cada subparcela, após 03 meses de cada corte realizado em função da estação climática, avaliou-se também o rebrote. Os mesmos procedimentos adotados anteriormente foram dispensados aos materiais vegetais obtidos nestas avaliações.

5.5. Análises Estatísticas

Na Tabela 4 encontra-se a disposição dos componentes da análise de variância utilizado neste estudo (Gomes, 1970).

Tabela 4: Análise de variância do experimento, com $a = 04$ doses de adubo, $b = 04$ épocas de corte (estações do ano), com $r = 04$ blocos. UNESP/Botucatu – SP, 2002.

Causas de Variação	G.L.
Doses de Adubo (D)	$a - 1$
Blocos	$r - 1$
Resíduo (a)	$(a-1)(r-1)$
Parcelas	$(ar-1)$
Épocas de Corte (E)	$b-1$

Interação D x E	(a-1)(b-1)
Resíduo (b)	a(b-1)(r-1)
Total	abr-1

Quando houve interação significativa, efetuou-se o desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos principais (doses de adubo) dentro dos tratamentos secundários (épocas de corte) e vice-versa.

Para o efeito de tratamentos principais dentro de tratamentos secundários, na interação significativa, utilizou-se a análise de regressão, com o efeito dos tratamentos sobre as variáveis resposta, com os graus de liberdade dos tratamentos decompostos pela técnica dos polinômios ortogonais, escolhendo-se o polinômio de maior grau que foi significativo para determinação da equação. Utilizou-se o programa estatístico ESTAT.

5.6. Variáveis Climáticas

Durante todo o experimento foram coletadas mensalmente as variáveis climáticas referentes à temperatura (mínima, máxima e média), precipitação pluvial (mm), umidade relativa (%) e insolação (h). Os dados destas variáveis encontram-se dispostos nas Figuras 2 e 3.

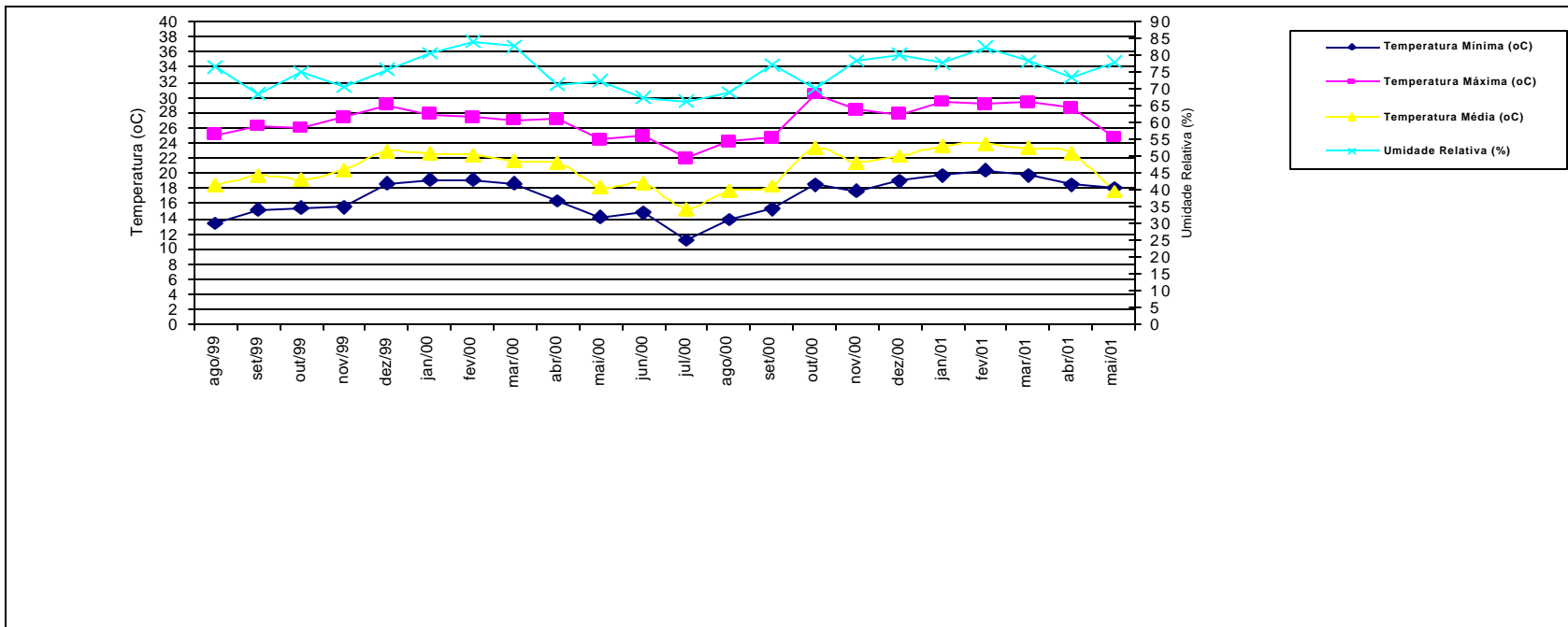


Figura 2. Variáveis meteorológicas registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu – SP, 2002.

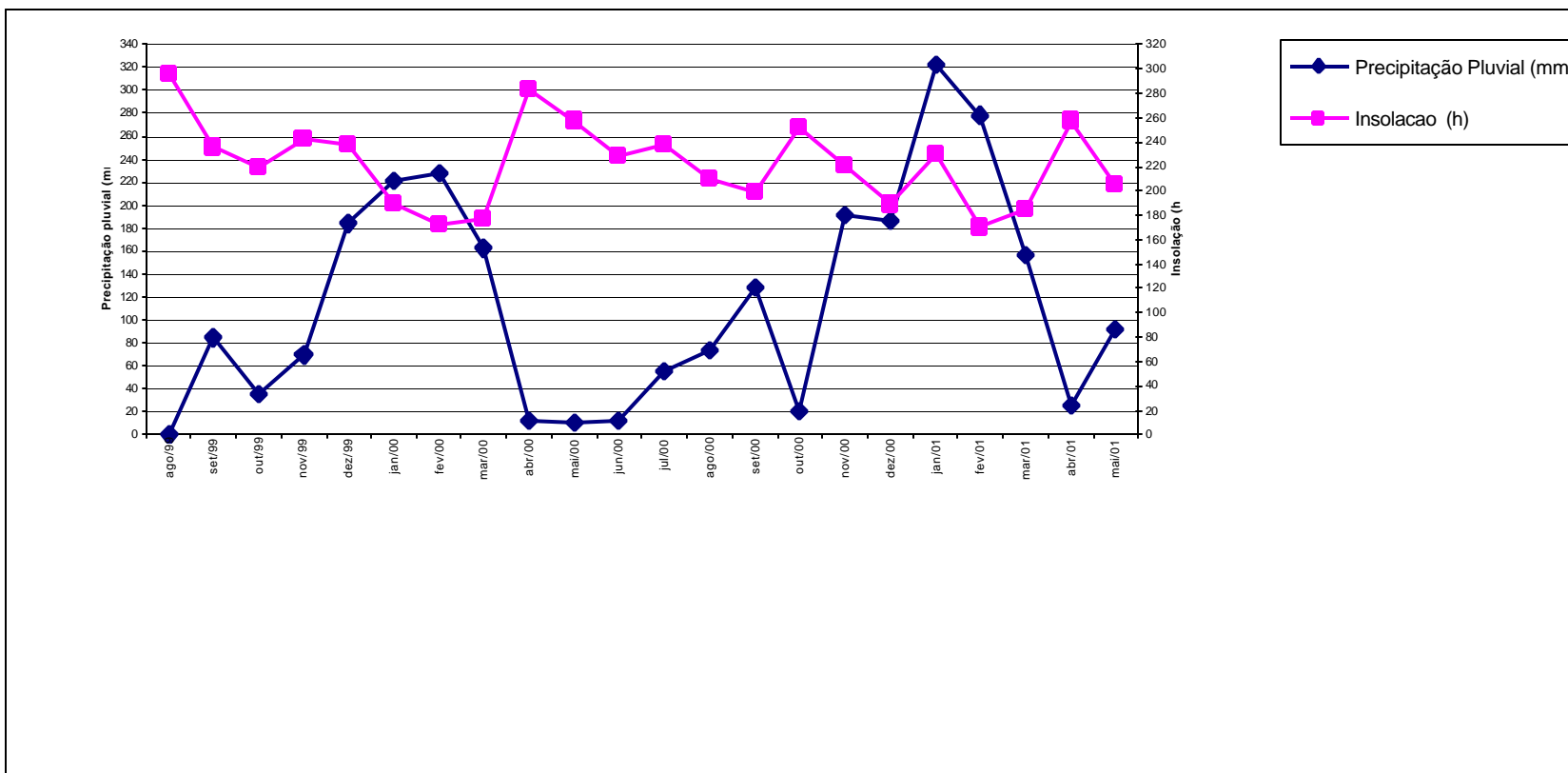


Figura 3. Variáveis meteorológicas registradas no período do experimento. UNESP/Botucatu – SP, 2002.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que as doses de adubo (tratamento principal) influenciaram significativamente para as variáveis produção de folhas, teores de N e K e quantidade de NPK na folha (Tabela 5), produção de caules e inflorescências e produção total da planta (folhas, caules e inflorescências), relação C/F + I, produção de óleo essencial (folhas e inflorescências) (Tabela 6). Estas mesmas variáveis quando submetidas às épocas de colheita (tratamento secundário) também mostraram-se diferentes significativamente, e por conseguinte, a interação resultante das doses de adubo x épocas de corte também o foi, com exceção para teor de K e produção de óleo para folhas e inflorescências. Embora a relação C/(F+I) apresente para ambos os tratamentos alta significância (1% de probabilidade), a interação neste caso não foi significativa (Tabela 6).

Observou-se também que os rendimentos de óleo essencial em folhas e inflorescências não foram significativos para as doses de adubo, embora o sejam em relação às épocas de corte, levando conseqüentemente a não significância da interação (Tabela 6).

Tabela 5. Quadrados médios das variáveis produção de folhas (g), teores e quantidade de NPK nas folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	Folhas	Teores			Quantidade		
			N	P	K	N	P	K
Doses de adubo (D)	03	416721,73**	84,94**	0,242ns	14,77**	756,26**	5,91**	445,96**
Blocos	03	10738,86ns	10,99ns	0,012ns	1,715ns	39,05ns	0,50ns	5,22ns
Resíduo (a)	09	7501,11	3,88	0,282	1,192	16,94	0,42	16,88
C.V. (%)		15,23	5,93	21,34	14,97	15,33	28,15	21,73
Épocas de corte (E)	03	5324868,64**	307,88**	0,718ns	6,679*	3965,06**	21,39**	2094,44**
Interação Dx E	09	261367,20**	13,77*	0,075ns	1,247ns	333,47**	6,46**	117,02**
Resíduo (b)	36	6711,97	5,33	0,282	1,788	11,18	0,34	9,96
C.V (%)		12,65	6,95	21,35	18,34	12,46	24,51	16,70

** - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste F;

ns – não significativo.

Tabela 6. Quadrados médios das variáveis produção de caules, inflorescências e total, relação C/(F+I), rendimentos de óleo essencial de folhas e inflorescências, de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	Caules	Inflorescências	Total	C/(F + I)	Rendimento Folhas (%)	Rendimento Inflorescências (%)
Doses de adubo (D)	03	1044847,98**	82804,45**	3789807,64**	0,1447**	0,0676ns	0,0540ns
Blocos	03	161217,88ns	436,63ns	199459,51ns	0,0282ns	0,0974ns	0,1778**
Resíduo (a)	09	84285,29	2105,46	184868,94	0,0163	0,0408	0,0153
C.V. (%)		17,44	10,51	14,57	11,79	10,11	18,64
Épocas de corte (E)	03	41228656,98**	781415,76**	91769940,03**	4,7255**	24,7753**	0,3249**
Interação Dx E	09	962518,82**	18110,37**	2516995,38**	0,0117ns	0,0778ns	0,0374ns
Resíduo (b)	36	106883,25	3311,63	179954,13	0,0156	0,0576	0,0181
C.V. (%)		19,63	13,19	14,38	11,53	12,02	20,27

** - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste F;

ns – não significativo.

As médias de produção de folhas expostas na Tabela 7 mostraram que houve significância estatística dentro das doses no corte realizado na primavera e no verão, verificando uma maior produção de folhas nas dosagens diferentes à testemunha.

Tabela 7. Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	326,37 Ab	419,81 Ab	887,95 Ba	890,53 Da
04	365,10 Ac	470,54 Ac	1057,10 Ab	1552,78 Ca
08	386,40 Ac	487,36 Ac	1057,28 Ab	1740,97 Ba
12	389,84 Ac	499,29 Ac	1074,90 Ab	2178,44 Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

As diferenças entre as doses de adubo proporcionaram para a primavera um efeito quadrático com taxas crescentes, mas no verão as doses o comportamento foi linear, tendo esses efeitos explicado 92 % para a primavera e 95 % para o verão (Figura 4). Ming (1992) verificou aumento na produção de biomassa em *Lippia alba* à medida que aumentou a quantidade de adubo orgânico, havendo uma grande resposta em crescimento vegetativo, a mesma tendência verificada neste trabalho no corte do verão.

Merece destacar o ganho que existe entre as três doses de adubo orgânico comparado com a ausência deste, pois na primavera essa diferença está em torno de um pouco maior de 100 g de folhas, mas no verão esse ganho representou quase o dobro apenas para o primeiro tratamento com adubo, ou seja, 4 kg/m² que a menor dose de adubo utilizada.

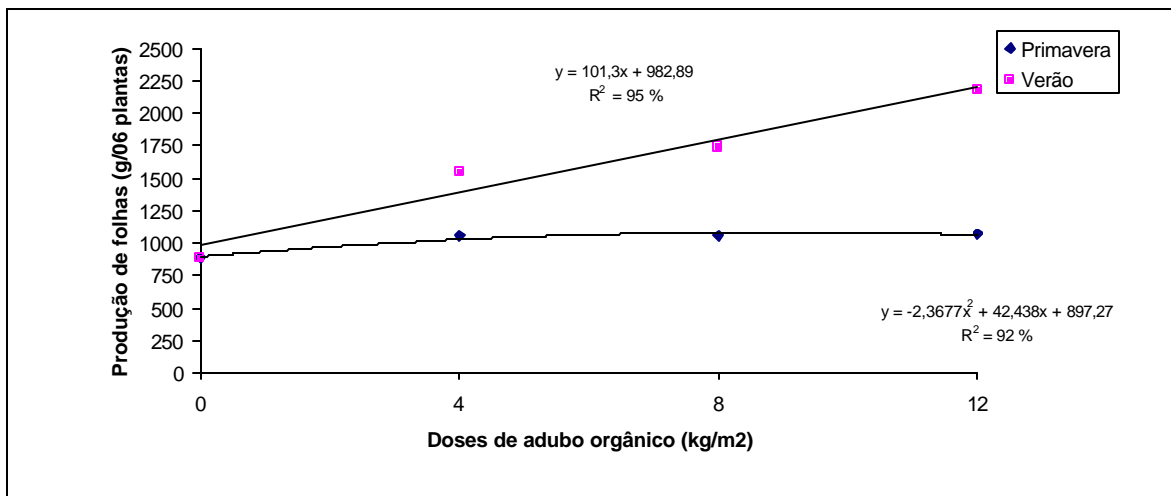


Figura 4. Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Observando-se a produção de folhas em relação às estações climáticas, percebe-se que é possível agrupar esta produção na ausência de adubação em dois grupos, ou seja, o primeiro (outono e inverno) e segundo (primavera e verão), pois entre o outono e inverno não houve diferença, assim como entre primavera e verão, mas o primeiro grupo produziu menos, possibilitando deste forma que o segundo grupo fosse significativo estatisticamente. Para as demais doses, até o outono não houve diferença. Estes resultados estão de acordo Czepak (1998) ao concluir que no inverno há diminuição no crescimento da planta de *Mentha arvensis* L., devido as temperaturas serem mais baixas.

Já primavera e verão responderam diferentemente, com aumentos significativos. Por ocasião da avaliação destas duas colheitas, houve a ocorrência das maiores temperaturas e umidade relativa proporcionada pela alta precipitação pluvial (Figura 3). Choudhury & Bordoloi (1986), na Índia, também com *Ocimum gratissimum*, constataram que

altas temperaturas, umidade e chuva proporcionaram as melhores condições para o desenvolvimento da espécie.

Com relação às doses de adubo, as duas primeiras épocas de corte (outono e inverno) não apresentaram diferença estatística na produção de folhas devido ao tempo ainda não muito longo para que a planta, uma espécie arbustiva relativamente grande (Matos, 1998), após absorver os nutrientes disponibilizados no solo pelos adubos, pudesse produzir biomassa de folha suficiente para haver a diferença estatística, mesmo havendo uma tendência a essa maior produção, de forma crescente, porém pequena. A aplicação de 12 kg/m² de adubo orgânico produziu 389,84 g no outono e na testemunha produziu 326,37 g, com um aumento de 19,45%. No inverno, essa diferença foi de 18,89 %, na primavera de 21,05 % e no verão 144,62 %.

Para as épocas de corte – como no experimento os cortes nas estações do ano também significavam cortes em plantas com idades diferentes (pois no outono as plantas tinham 04 meses de idade, no corte do inverno - 07 meses, no corte da primavera 10 meses e no corte do verão - 13 meses), é possível verificar uma maior produção de biomassa foliar à medida em que as plantas foram se desenvolvendo e a influência das doses de adubo só foram verificadas no 3º corte em diante, ou seja, do 10º mês de vida das plantas. Essa situação pode ser representativa de uma espécie arbustiva relativamente grande, de ciclo de vida não tão longo, embora considerada perene, ou seja, há uma demora na resposta das dosagens de nutrientes disponibilizados no solo, absorvidas pelas plantas e transformadas em biomassa posteriormente.

Outros fatores que podem consolidar tais assertivas se encontram nas Tabelas 8, 9 e 10, visto que as taxas de extração de N, P e K obtidas, praticamente tiveram a

mesma tendência, e considerando o aumento crescente nestes nutrientes disponíveis no solo em função dos tratamentos utilizados.

Na Tabela 8, referente às médias de quantidade de extração de N de folhas, não há diferença estatística nos dois primeiros cortes nas diferentes doses de adubo orgânico. Tal diferença só verificou-se nos cortes da primavera e verão, mais claramente no último. No outono, a diferença de extração de N entre as doses 12 kg/m² e 0 kg/m² (testemunha) foi de 9,00 %, 18,76 % no inverno, 54,05 % na primavera e de 232,09 % no verão, ou seja, a disponibilidade, absorção e utilização do N para a produção de biomassa tem uma tendência de aumento no decorrer do tempo. Esta espécie arbustiva não consegue nos seus 07 primeiros meses de vida, apresentar maiores extrações de N, mesmo havendo doses crescentes disponibilizadas, proveniente de um adubo orgânico (poedeira) curtido. Há que considerar também que este adubo contém boa quantidade de material inorgânico na forma de serrapilheira, que demora um pouco mais para ser degradado químico e biologicamente, para disponibilizar o N presente em seus tecidos (Kiehl, 1979). Isso é corroborado ainda pelos resultados de N nos cortes. Verificou-se que nos 02 primeiros cortes (outono e inverno) não houve diferença estatística entre as diferentes doses de adubo orgânico. As diferenças só ocorreram a partir do 3º corte (primavera) e de forma crescente, em todas as dosagens aplicadas. No tratamento 12 kg/m², a extração de N foi de 69,01 g e no outono de 12,83 g, com um aumento de 437,88 %. Já no tratamento testemunha, a diferença de extração entre essas duas épocas de corte foi de 76,55 % e nos outros tratamentos, valores intermediários. Isso confirma que a disponibilidade do N é verificada ao longo do tempo após o plantio e que os resultados de sua absorção e de seu uso para a produção de biomassa exigem um tempo

maior para serem verificados, ou seja, na fase inicial a quantidade de nutrientes no solo era suficiente para atender a demanda.

Para P e K (Tabelas 9 e 10), essa tendência foi observada mais intensamente. Nas primeiras 03 épocas de colheita não foram verificadas diferenças estatísticas nas extrações destes elementos quando aplicadas diferentes e crescentes doses de adubo orgânico. Tal diferença somente foi observada na última colheita (verão).

Ao longo do tempo (épocas de corte), os resultados permitiram inferir que a extração de nutrientes do solo aumentou à medida em que a planta foi se desenvolvendo. A diferença de extração de P para a dose testemunha foi de 235,52% quando comparada à média do verão (último corte), com a média do outono (primeiro corte) e de 740,78 % para essas duas épocas na dose 12 kg/m².

Para o K (Tabela 10), essa diferença é de 331,57 % na dose testemunha e de 565,62% na dose 12 kg/m². Estes resultados confirmam que P e K são menos assimiláveis pelo *Ocimum gratissimum* que o N (Kiehl, 1979) e que sua assimilação maior ocorre a partir do 10^o mês de idade da planta.

Tabela 8. Extração de N (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	11,77Ab	14,39Ab	23,18Ba	20,78Ca
04	10,38Ac	16,28Ac	33,47Ab	45,60Ba
08	14,76Ac	16,75Ac	36,17Ab	51,28Ba
12	12,83Ac	17,09Ac	35,71Ab	69,01Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 9. Extração de P (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	0,57Ac	1,08Abc	1,87Aab	2,55Ca
04	0,76Ac	1,11Ac	2,40Ab	2,46Ba
08	0,76Ab	1,28Ab	2,44Aa	3,88Ba
12	0,96Ac	1,28Ac	2,44Ab	6,39Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 10. Extração de K (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	6,19Ab	8,54Ab	15,14Ba	17,17Ca
04	6,56Ac	10,81Ac	24,27Ab	31,59Ba
08	8,46Ac	12,63Ac	26,10Ab	36,61Ba
12	11,74Ac	13,45Ac	25,47Ab	47,83Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

A literatura não registra teores de NPK para esta espécie, mas neste experimento (Tabelas 11, 12 e 13) verificou-se que para os teores de N (Tabela 11), as doses de adubo utilizadas afetaram significativamente, nas avaliações das épocas de corte do outono, primavera e verão, e por ocasião do inverno que ocorreram as mais baixas temperaturas possivelmente este fato influenciou uma menor taxa de absorção desse nutriente, sendo que a ausência do adubo (testemunha) apresentou os menores valores em relação as doses utilizadas, onde houve diferença significativa.

Observou-se também que o avanço na idade da planta correspondeu a um menor teor de N, embora as produções de folhas foram crescentes em função das épocas

de corte, ocasionando possivelmente uma maior “diluição” deste na produção de folhas (Tabela 7).

P não apresentou diferença significativa para os tratamentos principais e secundários (Tabela 12). Nas doses utilizadas, verificou-se que 08 e 12 kg/m² apresentaram valores numéricos superiores. Nas épocas de corte houve aumento nos teores de P em função da idade da planta, tendo ocorrido o inverso para N.

Para o K houve diferença significativa da ausência de adubo orgânico em relação as outras doses, com a testemunha apresentando o menor valor (Tabela 13). Nas épocas de corte, houve diferença significativa, mas o comportamento foi inverso, ou seja, à medida que a planta tinha mais idade, o teor de K decresceu.

Tabela 11. Teores de N (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, em função, da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	36,12 Ba	34,26 Aa	26,14 Bb	23,41 Bb
04	38,22 Aa	34,30 Ab	30,94 Abc	29,40 Ac
08	39,23 Aa	34,33 Aa	34,23 Aa	29,40 Ab
12	41,33 Aa	34,47 Ab	34,16 Ab	31,60 Ab

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 12. Teores de P (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	P
00	2,48a
04	2,31a
08	2,56a
12	2,59a
Média	2,48
DMS	0,59
Estações climáticas	
Outono	2,28a
Inverno	2,36a
Primavera	2,54a
Verão	2,76a
Média	2,48
DMS	0,50

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 13. Teores de K (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	K
00	18,91b
04	22,65ab
08	25,47a
12	25,18a
Média	23,05
DMS	0,38
Estações climáticas	
Outono	25,37a
Inverno	24,00ab
Primavera	22,12ab
Verão	20,73b
Média	23,05
DMS	0,40

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Na Tabela 14 encontram-se os valores relativos à produção de caules. Ao se comparar o efeito das doses de adubo dentro das estações climáticas percebe-se que não houve diferença significativa para os mesmos até a avaliação da primavera. Diferentemente da folha, percebe-se que a diferença entre a ausência e presença do adubo orgânico não foi tão acentuada (Tabela 7), e que apenas no outono a produção de caules foi, comparativamente à produção de folhas, menor, em termos de grandeza absoluta. Essa situação mostra que nos estágios iniciais do desenvolvimento da cultura (até o 4º mês), a produção de biomassa foliar é maior do que a produção de biomassa caulinar, ou seja, a espécie prioriza a formação de folhas para acelerar e aumentar a atividade fotossintética para depois aumentar sua sustentação através dos tecidos lignificados do caule (Metcalf & Chalk, 1985 e Cutter, 1986).

Tabela 14. Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	243,50 Ac	770,90 Ac	1817,59 Ab	2580,08 Ca
04	213,22 Ad	814,06 Ac	1690,57 Ab	3732,48 Ba
08	223,91 Ad	836,54 Ac	1765,41 Ab	4250,25 Ba
12	223,29 Ac	898,50 Ac	1864,72 Ab	4917,25 Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Ao se analisar o verão, percebe-se que houve um aumento em valores crescentes em função das doses do esterco aplicadas no solo, com a maior dose proporcionando um valor quase duas vezes maior (90,58 %) quando em comparação à produção de folhas, com esses valores resultando num efeito linear crescente ($R^2 = 97,0 \%$) em função das doses de adubo, sendo esse comportamento linear explicado por 97 %. (Figura 5).

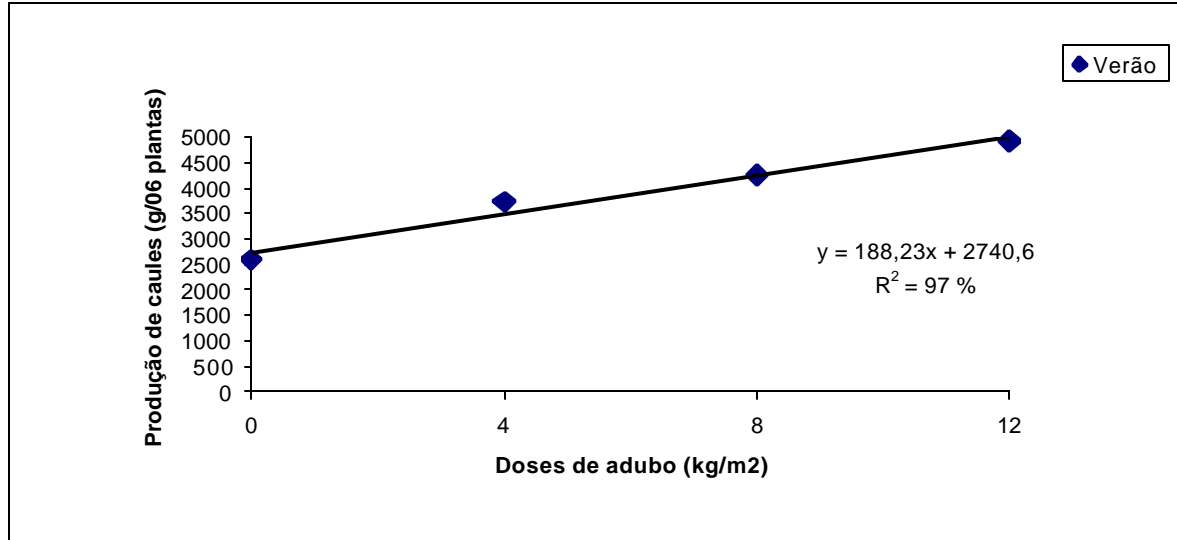


Figura 5. Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

À semelhança dos resultados da produção de biomassa foliar, a produção de caule é um processo continuado, porém de uma maneira menos intensa nos 07 primeiros meses de implantação da cultura e mais intensa a partir do 10º mês de implantação. E as diferentes doses de adubo orgânico apenas apresentam efeito a partir do 13º mês de implantação.

Balyan & Singh (1992) obtiveram acréscimo na produção de madeira fresca até o quarto ano de corte em *Ocimum gratissimum*. Furlan (2002) com *Ocimum basilicum* cv. *Genovese* observou que a partir da vigésima semana as plantas apresentaram os caules e ramos mais lenhosos. Por outro lado Ming (1996) não observou incremento na produção de caules com adubação orgânica em *Ageratum conyzoides*, salientando-se que se trata de uma espécie herbácea, de ciclo anual.

A análise dos dados da Tabela 15 refere-se à inflorescência, o último componente da parte aérea. A massa seca de inflorescência não foi significativa para as doses apenas no inverno. Nas outras estações avaliadas observou-se que apenas essa diferença está entre a testemunha (ausência de adubo) e presença do adubo, pois entre as três doses (4, 8 e 12 kg/m²), demonstrando a importância da adubação utilizada, constatando-se aumento nas três épocas avaliadas, mas no outono o crescimento ocorreu em taxas decrescentes, com R² de 84 %, enquanto as duas últimas foram à taxas crescentes, sendo explicado por 86 e 77 %, respectivamente (Figura 6).

Tabela 15. Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	228,12 Bb	227,78 Ab	404,99 Ba	491,25 Ba
04	228,18 Bc	217,06 Ac	486,17 ABb	757,18 Aa
08	268,03 Bc	286,11 Ac	556,58 Ab	811,58 Aa
12	347,93 Ac	291,48 Ac	551,58 Ab	827,91 Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tal fato pode ter suporte quando observa-se que na avaliação do outono já há um declínio nas temperaturas, ocasionando, portanto, uma menor taxa de crescimento nestas estruturas.

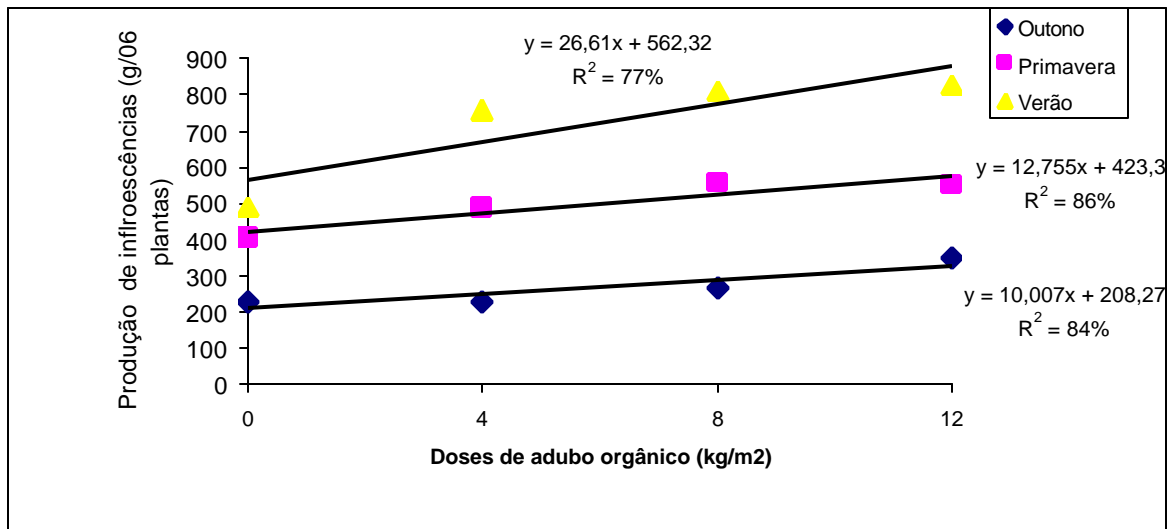


Figura 6. Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

A produção de inflorescências das estações em função das doses de adubo revelou para a ausência de adubo a mesma tendência em relação à produção de folhas (Tabela 7), ou seja, no inverno não houve diferença significativa, sendo que o mesmo ocorreu entre primavera e verão, voltando novamente a necessidade de se agrupar essa variável em dois grupos. Para as doses estudadas percebe-se que também não houve diferença para as duas primeiras estações, enquanto nas duas restantes há diferença estatística entre ambas e desses para o outono e inverno. Novamente parece que as condições climáticas, principalmente àquelas inerentes ao inverno não permitiram as plantas, apesar de já possuírem considerável produção de caules (Tabela 14), uma expressão maior em termos de inflorescências. E isto parece se confirmar nas duas estações seguintes, com o efeito das temperaturas baixas ser gradativamente superado assim como a resposta da planta às adubações crescentes, ficando isso mais acentuado no verão, pois se tem aí a associação de condições climáticas e efeito de

doses de adubo aliados ao fato de maior permanência das plantas no campo, por ocasião da avaliação do verão.

Comparando-se as características desses componentes estudados, de certa forma pode-se inferir que, tanto folhas como inflorescências, devido às suas características ontogenéticas, têm um menor tempo destinado aos seus ciclos de vida, o que é inerente aos órgãos que na fase inicial são fontes fotossintéticas e depois passam a ser drenos, como é o caso das inflorescências, portanto geneticamente tendo um ciclo biológico menor (Charles & Simon, 1992) e conseqüentemente respondendo de forma diferente aos efeitos das estações climáticas em relação às quantidades de nutrientes extraídas (no caso das folhas) e estações climáticas.

A Tabela a seguir (Tabela 16) refere-se a produção total, e considerando-se que esta variável advém do somatório das variáveis anteriores (Tabelas 7, 14 e 15), percebe-se que entre as doses de adubo estudadas aplicadas só houve diferença estatística na última estação avaliada, ou seja, no verão. De certa forma esta característica também foi observada para as variáveis que compõem a produção total.

Tabela 16. Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	798,00 Ac	1418,49 Ac	3110,53 Ab	3961,86 Ca
04	806,32 Ac	1501,67Ac	3253,85 Ab	6042,43 Ba
08	879,48 Ac	1610,01Ac	3379,27 Ab	6802,80 Ba
12	961,06 Ac	1689,28Ac	3491,14 Ab	7923,60 Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Quando houve significância é interessante mencionar que houve efeito da aplicação de adubo orgânico, pois a menor produção foi observada para a ausência deste, pois esta produção foi crescendo com o aumento das doses de adubo, dobrando em relação a maior dose, revelando um comportamento linear que está exposto na Figura 7.

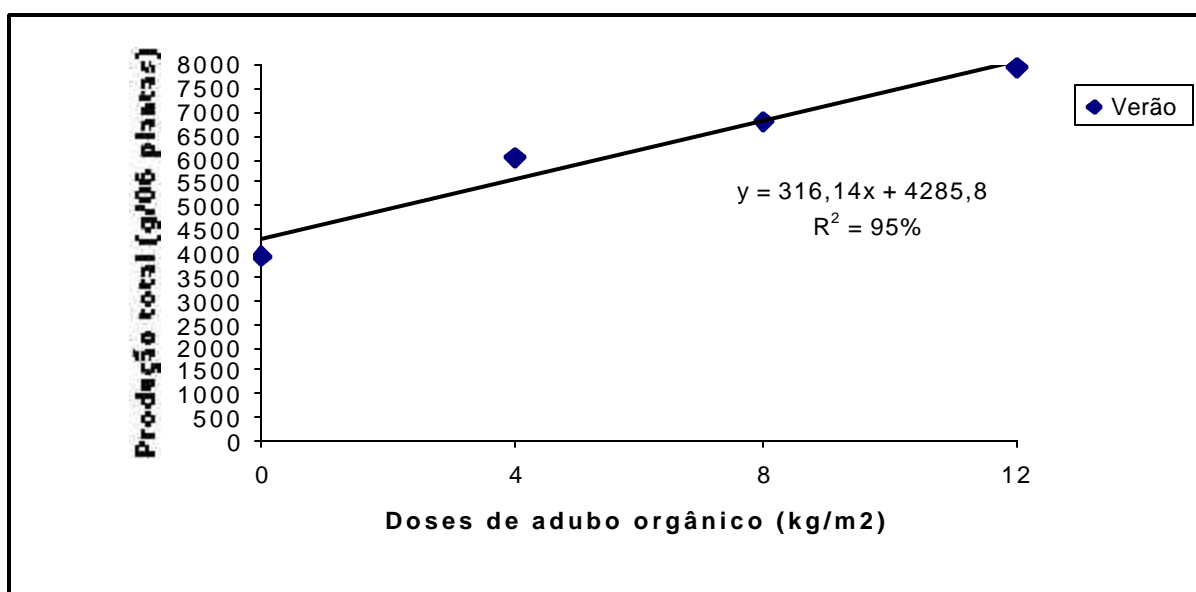


Figura 7. Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Quando observa-se o corte realizado nas estações climáticas, percebe-se que embora não tenha havido diferenças entre o outono e inverno, houve um crescimento na produção total de alfavaca-cravo e isto foi principalmente devido à produção de caules (Tabela 14), vindo em seguida com uma menor contribuição as folhas (Tabela 7) e por último as inflorescências (Tabela 15). Tal observação de certa forma encontra suporte no fato de que de uma estação para outra houve queda na temperatura, assim como na umidade relativa e também no número de horas de luz.

Nas estações seguintes, da mesma forma que ocorreu na produção de folhas, caules e flores, foi verificada diferença estatística, com produção total expressivamente maior. No tratamento testemunha, a produção, de 798,00 g no outono foi para 3956,86 g no verão, com um aumento de 395,6 %. No tratamento 12 kg/m² de adubo orgânico, esse aumento foi de 799,3 %.

Essa situação reforça o fato de que há um crescimento progressivo e acentuado da planta a partir do 10^o mês de instalação da cultura, e que a produção de caules foi a que contribuiu com a maior proporção da biomassa aérea seca, com a participação de 4917,25 g (62,1 % do total), seguido de folhas (27,5 % do total) e inflorescências (10,4 % do total).

Na Tabela a seguir (Tabela 17) observou-se que a relação caules/(folhas + inflorescências) mostrou diferença significativa entre a ausência e presença de adubo, com o maior valor obtido para a ausência de adubo. Isto demonstra que houve maior produção de caules em relação à produção de folhas e inflorescências, nas plantas cultivadas na ausência de adubo orgânico. Quando compara-se as doses entre si (4, 8 e 12 kg/m²), observa-se que não houve diferença estatística entre as mesmas e os valores para essa relação foram bem menores em comparação com a testemunha. Desta forma, o uso de adubação orgânica favoreceu a uma maior produção de folhas, fato verificado também na Tabela 7, para produção de folhas.

Tabela 17. Relação C/(F+I) e rendimentos (%) de óleo essencial de folhas e inflorescências e produção de óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	C/(F+I)	Rendimento de óleo essencial (%)		Produção de óleo essencial (mL/06 plantas)
		Folhas	Inflorescências	Inflorescências
00	1,23a	2,04a	0,60a	2,35b
04	1,02b	2,03a	0,63a	3,32ab
08	1,05b	2,00a	0,71a	2,90b
12	1,04b	1,90a	0,71a	3,91a
Média	1,08	1,99	0,66	3,12
DMS	0,14	0,22	0,14	1,00
Estações climáticas				
Outono	0,38c	1,29c	0,59bc	1,57c
Inverno	1,08b	1,08c	0,53c	1,36c
Primavera	1,18b	1,81b	0,67b	3,47b
Verão	1,70a	3,80a	0,86a	6,08a
Média	1,08	1,99	0,66	3,12
DMS	0,12	0,23	0,13	0,87

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Esses dados também permitiram inferir que proporcionalmente, a produção de biomassa de caule foi maior do que a de folhas + inflorescências no tratamento testemunha, ou seja, com a aplicação de doses crescentes de adubo orgânico a produção de folhas + inflorescências foi estimulada.

Para o efeito das épocas de corte nesta variável, percebe-se que houve diferença significativa nas épocas de corte avaliadas. No outono observa-se que as plantas tinham apenas 110 dias da aplicação dos tratamentos e de certa forma as folhas e inflorescências até então produzidas superavam a produção de caules, e o fato de tratar-se de planta jovem com alto percentual de umidade presente nesses caules, deixando-os mais tenros.

À medida que foram realizados os outros cortes, percebe-se que houve aumento de produção de caules.

Tal característica pode estar relacionada ao fato de tratar-se de um arbusto (Matos, 1998), a própria arquitetura espacial da espécie leva a um sobreamento dos ramos internos, ou seja, do ponto de inserção dos ramos nos caules, que leva a senescência de folhas localizadas mais internamente e mais velhas, além do fato de com o desenvolvimento das plantas, aumentar o teor de celulose, tornando os caules com maior percentagem de matéria seca. Isso ficou demonstrado quando verifica-se no outono e inverno, em que a produção de caules, embora não estatisticamente diferentes entre essas duas épocas, o acréscimo nesta produção é da ordem de 500,0 g, aliado ao fato de que as inflorescências também não apresentaram diferença estatística, e esse acréscimo foi praticamente inexistente.

Embora a produção de folhas para essas duas estações seja significativa, esse aumento não representou nem sequer o dobro da primeira. Este mesmo raciocínio vale também para os cortes da primavera e verão, em que além de haver diferença significativa entre as mesmas, a taxa de aumento para produção de caules foi muito superior em comparação às demais partes da planta estudadas, e isso ficou notório quando entre inverno e primavera não foi encontrada diferença estatística, com 1,08 e 1,18, respectivamente, os valores para essa relação, enquanto no verão esse valor atingiu 1,70. Furlan (2000) e Balyan & Singh (1992) verificaram aumento na produção de caules em dois estudos com *Ocimum spp.*

Ainda nesta Tabela (Tabela 17), verifica-se que o rendimento de óleo essencial oriundo das folhas, independentemente de doses de adubo e épocas de corte, foi superior aquele proveniente das inflorescências. Analisando os dados de rendimento de óleo

essencial de folhas e inflorescências, separadamente, verifica-se que não houve diferença estatística com a adição de doses crescentes de adubo orgânico. Charles et al. (1990) obtiveram em *Ocimum micranthum* rendimento de óleo para inflorescências de 0,63 %, enquanto folhas e caules foram de 1,54 e 0,08 % respectivamente. Mas estes dados são discordantes com os obtidos por Moraes et al. (2002) em que as inflorescências de *Ocimum selloi* tiveram rendimento de 0,6 %. Para as folhas e inflorescências, não houve diferença estatística em relação às doses utilizadas. Nas folhas observa-se que numericamente na ausência de adubo foi maior o rendimento, e à medida que se aumenta a dose de adubo, houve um decréscimo no rendimento deste até a maior dose.

Não há na literatura, um consenso em relação à resposta do rendimento de óleo essencial frente ao uso de tipos de adubos e muito menos de doses, pois enquanto Silva et al. (2001) e Ming (1992) obtiveram os maiores rendimentos para *Baccharis trimera* e *Lippia alba* na ausência de adubação orgânica, sugerindo o segundo autor que uma possível explicação esteja relacionada do fato de que há um componente ecológico relacionado, não envolvendo apenas a questão nutricional, há ainda outros relatos de que adubação orgânica (composto) influenciou positivamente, como na dose de 3,0 kg/m² aumentou o rendimento de óleo essencial de *Achillea millefolium* (Scheffer, 1998). Outros registros, agora com doses de macro e micronutrientes, em que Hornok (1983) verificou que o teor de óleo essencial de *O. basilicum* aumentou com 04 níveis de NPK, ou com NPK adicionado ao esterco de aves em *Ocimum basilicum* (Silva et al., 2001), ou só aplicação de N para *Eucalyptus sp.*, de acordo com os dados de Mahdi et al. (1987), ou ainda nos casos em que não há resposta no rendimento, como observado por Ming (1996) com mentrasto, Corrêa Jr. (1988) com

camomila, independente do tipo de adubo, ou ainda o efeito de micronutrientes como foi observado por Choydhury et al. (1986) e Maia et al. (2001).

Os resultados desse trabalho referendam a diversidade de resultados com relação ao rendimento de óleo essencial em espécies aromáticas, nas quais podem ser verificadas várias situações. Gershenzon (1984), em estudo com mais de 100 espécies aromáticas, concluiu que as espécies herbáceas respondiam positivamente ao stress nutricional, com maior proporção desses compostos, o inverso ocorrendo com espécies arbóreas. A espécie estudada tem hábito arbustivo, confundindo ainda mais a questão. Mas, como citado por Ming (1992), o componente "adubação" não pode estar dissociado de outros componentes que interferem no desenvolvimento da planta (e suas partes vegetais) e no rendimento dos óleos essenciais e seus componentes, devendo ser feita uma análise que inclua componentes bióticos, como a relação da espécie com microrganismos, insetos, outras plantas e as rotas biossintéticas dos compostos produzidos pela planta. Outros autores também corroboram essa necessidade (Bustamente, 1996, Hornok, 1992 e Correa Jr. et al., 1994).

Para as épocas de corte verifica-se que no inverno obteve-se para folhas o menor rendimento que não diferiu da estação anterior (outono), mas ambas diferiram da primavera e esta do verão, onde obteve-se o maior rendimento de óleo essencial. Os dados também nos mostram que à medida que a temperatura e umidade relativa aumentam há um aumento no rendimento. Ming et al. (2002) com óleo essencial de *Piper aduncum* oriundo de uma população natural nas condições do Paraná – BR, constataram que o rendimento foi menor nos meses de temperaturas mais baixas, e Choudhury e Bordoloi (1986) com *O. gratissimum* obtiveram os maiores rendimentos em plantas que se desenvolveram em condições de altas temperaturas, umidade do ar e chuva. Kapur et al. (1982) alcançaram altas

produções de óleo essencial em *E. citriodora* nos meses mais quentes. Donalísio et al. (1971) obtiveram em *Cymbopogon citratus* as maiores produções de óleo essencial numa frequência de 03 cortes anuais, nos meses mais secos e frios. Figueiredo (1998) encontrou situação semelhante, o mesmo acontecendo com Koshima et al. (2002), ambos com a mesma espécie. Por outro lado Lopes et al. (1997) não constataram variação no teor de óleo essencial em folhas de *Virola surinamensis* em função das estações climáticas da Região Amazônica.

Nas inflorescências, observa-se que embora não tenha havido diferenças estatísticas, os valores obtidos em relação às doses de adubo mostraram um crescimento numérico em relação ao aumento das doses. Scheffer (1998) constatou que a dose de 3,0 kg/m² de composto proporcionou o maior rendimento de óleo essencial em sumidades floridas para *Achillea millefolium*.

Nas épocas de corte observou-se também a mesma resposta para as inflorescências, ou seja, o rendimento foi menor no inverno, alcançando o valor máximo e significativo no verão, e à medida que a temperatura diminui, este também acompanhou a queda (do outono para o inverno), com diferença estatística significativa.

Na literatura é encontrado mais o efeito da fase reprodutiva (florescimento, semente) em si no rendimento de óleo essencial do que propriamente o efeito das estações. Gupta (1996) observou que em *O. gratissimum* aos 210 dias do transplante, o rendimento de óleo essencial foi maior, momento em que 50 % das plantas já apresentavam sementes desenvolvidas. Pal (1990) com *O. viride* constatou o mesmo nos estágios de 50 % e florescimento total. Já Cunha & Roque (1986) com *Rosmarinus officinalis* obtiveram maior rendimento na floração. Lammerinck (1989) concluiu que a queda das flores fez cessar o aumento na produção de óleo essencial em *Lavandula x intermedia*. Para *Nepeta cataria* var.

citriodora, Hornok et al. (1992) identificaram o mesmo quando as plantas se encontravam nos estádios compreendidos entre o início e completo florescimento, em dois anos de estudo.

Esses valores e situações diferenciadas corroboram com a hipótese que as espécies se adaptam às diferentes situações ambientais e estádios ontogenéticos e/ou fenológicos. Cada uma dessas características leva a produção diferenciada de óleo essencial e seus compostos. Discutir e analisar esses resultados associativamente é o desafio da pesquisa interdisciplinar com plantas medicinais e aromáticas.

Mas ao analisarmos a produção de óleo essencial para as inflorescências (Tabela 17) verificou-se que houve diferença estatística em função das doses de adubo orgânico utilizadas e épocas de corte, com a maior dose (12 kg/m^2) sendo superior as outras. Nas épocas de corte, o verão apresentou diferença estatística em relação as outras avaliações. Embora o rendimento tenha sido significativo em relação as demais doses, a produção de óleo essencial por ser resultado deste x produção de inflorescências (Tabela 15), devido ao aumento observado nestas estruturas, resultou em maior valor por ocasião da avaliação do verão.

Para as folhas (Tabela 18 e Figura 8) as doses de adubo só influenciaram significativamente no verão, mas com valores muito superiores em relação às inflorescências. Considerando que no verão obteve-se o maior rendimento para as folhas (Tabela 17) e nesta também obteve-se as maiores produções de folhas (Tabela 7), a adubação propiciou aumento na produção de óleo essencial com a maior dose (12 kg/m^2), apresentando uma produção de 76,96 mL/06 plantas, diferindo estatisticamente das demais doses e das demais épocas de corte.

Tabela 18. Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	3,96 Ac	4,66 Ac	15,41 Ab	36,71 Ca
04	3,72 Ac	5,05 Ac	19,93 Ab	59,05 Ba
08	4,96 Ac	5,39 Ac	19,47 Ab	65,74 Ba
12	3,88 Ac	4,96 Ac	19,16 Ab	76,96 Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

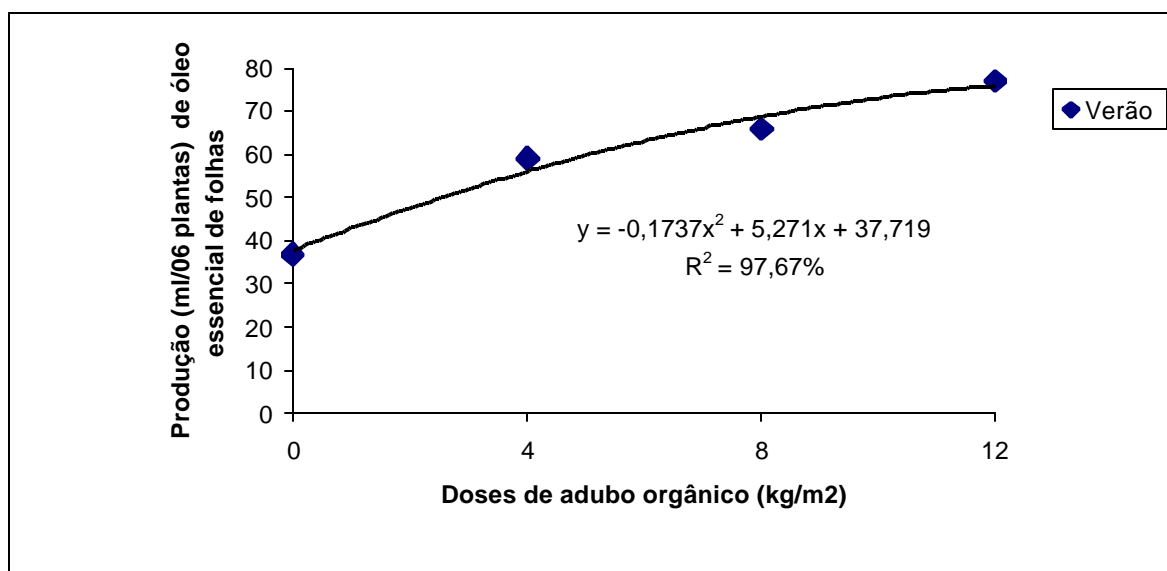


Figura 8. Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Os valores expressos a seguir (Tabela 19) revelam que os teores de eugenol, 1,8-cineol e β -selineno presentes no óleo essencial das folhas não foram significativos para as doses de adubo orgânico, enquanto trans-cariofileno e cis-ocimeno

responderam à adubação orgânica. Por sua vez, todos os constituintes do óleo essencial analisados na folhas foram altamente significativos em função das épocas de corte.

Tabela 19. Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das folhas de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	eugenol	1,8-cineol	β -selineno	trans-cariofileno	cis-ocimeno
Doses de adubo (D)	03	16,6937ns	9,1102ns	5,6858ns	2,2345*	1,5644*
Blocos	03	114,7304*	18,6980ns	2,5507ns	0,58341ns	0,4621ns
Resíduo (a)	09	26,4460	8,0481	2,2736	0,4817	0,2525
C.V. (%)		11,63	11,95	17,74	13,64	11,81
Épocas de corte (E)	03	1091,6840**	294,6610**	169,0695**	80,2613**	5,0449**
Interação Dx E	09	14,5868ns	3,9114ns	2,4669ns	1,3529ns	0,2904ns
Resíduo (b)	36	26,0150	11,5180	2,2691	0,6810	0,3787
C.V (%)		11,54	14,30	17,72	16,09	14,48

*, ** - significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo Teste F;

ns – não significativo.

Os constituintes químicos (majoritários) do óleo essencial das folhas e inflorescências (Tabelas 20 e 22) demonstraram que alfavaca-cravo tem no seu metabolismo secundário a presença de duas vias biossintéticas, que são: a via do chiquimato (ou ácido chiquímico) e a via do acetato (ou do Acetil Co-Enzima A) (Gottlieb & Borin, 2000). O eugenol, derivado do chiquimato foi o composto majoritário, vindo em seguida os terpenos: monoterpenos (1,8-cineol e cis-ocimeno) e os sesquiterpenos (β -selineno e trans-cariofileno), sendo que outros compostos também foram identificados, mas com percentual abaixo de 3 % (APÊNDICE 1).

Tabela 20. Componentes do óleo essencial das folhas de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	eugenol	1,8-cineol	β -selineno	trans-cariofileno	cis-ocimeno
00	45,49a	23,00a	6,24a	4,99ab	3,87b
04	44,55a	24,53a	7,52a	5,63a	4,16ab
08	43,40a	24,22a	6,64a	4,74b	4,40ab
12	43,36a	23,18a	7,34a	5,15ab	4,59a
Média	44,20	23,73	6,93	5,13	4,25
DMS	5,68	3,13	1,67	0,77	0,55
Estações climáticas					
Outono	47,33b	21,79bc	7,17b	5,32b	4,73a
Inverno	33,73c	19,82c	11,44a	8,20a	3,51c
Primavera	42,48b	29,74a	4,84c	3,87c	4,65ab
Verão	53,27a	23,59b	4,29c	3,12c	4,13b
Média	44,20	23,73	6,93	5,13	4,25
DMS	4,86	3,23	1,44	0,79	0,59

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Maia et al. (2001) obtiveram maior percentual de eugenol no tratamento controle ao utilizar soluções hidropônicas em *O. gratissimum*, enquanto Hornok (1983) obteve respostas diferentes para NPK em *O. basilicum*. Mahdi et al. (1987) verificaram

que os teores de cineol e citronelol aumentaram até a dose de 200 kg/ha de N em *Eucalyptus* sp. Furlan (2000) não encontrou variação ao utilizar doses de NPK nos constituintes do óleo essencial de *O. basilicum* cv. *Genovese*, sendo o linalol a principal substância.

Considerando-se apenas os compostos da via do acetato, percebe-se que os monoterpenos (1,8-cineol e cis-ocimeno) contribuíram com aproximadamente 27 %, enquanto os sesquiterpenos representaram apenas 11 %.

Para as estações climáticas denota-se que no inverno a proporção relativa de eugenol decresceu, aumentando em função das estações que teve maiores temperaturas, alcançando o máximo no verão. Parece que aqui também baixas temperaturas fizeram decrescer esse composto no óleo essencial. Os monoterpenos também apresentaram as menores médias por ocasião do inverno, enquanto os sesquiterpenos contrariamente revelaram valores superiores e estatisticamente significativos nessa estação. É interessante mencionar ainda que a via do chiquimato (através do eugenol) parece ter sofrido mais influência do efeito das temperaturas mais baixas do que o acetato, pois a amplitude de variação para o eugenol foi muito maior do que para os outros compostos e que esta redução não significou necessariamente um aumento “complementar” de uma via em relação à outra. Czepak (1998) obteve redução no teor de mentol quando as plantas estavam sob condições de baixas temperaturas. Para Putievsky et al. (1998) p-cimeno e carvacrol (principais componentes do óleo essencial de *Origanum vulgare*) não tiveram influência da estação climática. Lopes et al. (1997) em folhas de *Virola surinamensis* nas condições da Amazônia brasileira, constataram que nas três épocas de estudo (fevereiro – estação chuvosa, junho – estação seca e outubro – início das chuvas), o teor total de monoterpenos (α -pineno e limoneno como principais componentes) foi maior por ocasião da estação seca, quando a planta inicia a fase de

florescimento. Os sesquiterpenos (principal composto foi o cariofileno) permanecem em baixos níveis até o final da estação seca, e a partir daí com o início da formação do fruto aumenta até 50 %. Já os fenilpropanóides (metil eugenol e elemicina) em fevereiro alcançam seu maior percentual, e decrescem à medida que a planta entra na fase reprodutiva.

A seguir são apresentados um cromatograma do óleo essencial das folhas (Figura 9) e outro das inflorescências (Figura 10) obtidos neste experimento, com a indicação dos principais e mais abundantes componentes (5: eugenol, 2: 1,8-cineol, 8: β -selineno, 6: trans-cariofileno e 3:cis-ocimeno, 10: óxido de cariofileno e 9: α -selineno) (Figuras 11 a 17).

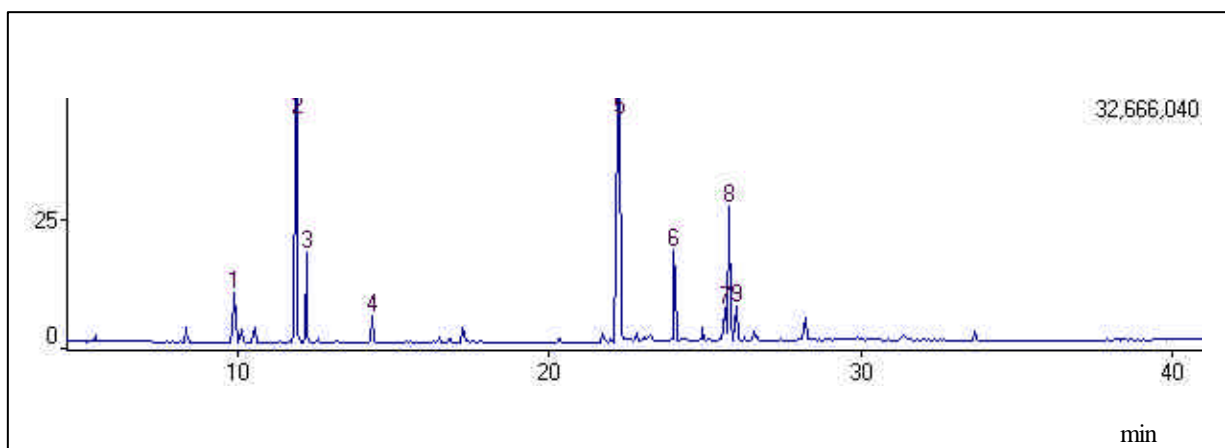


Figura 9. Cromatograma do óleo essencial de folhas de alfafa-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

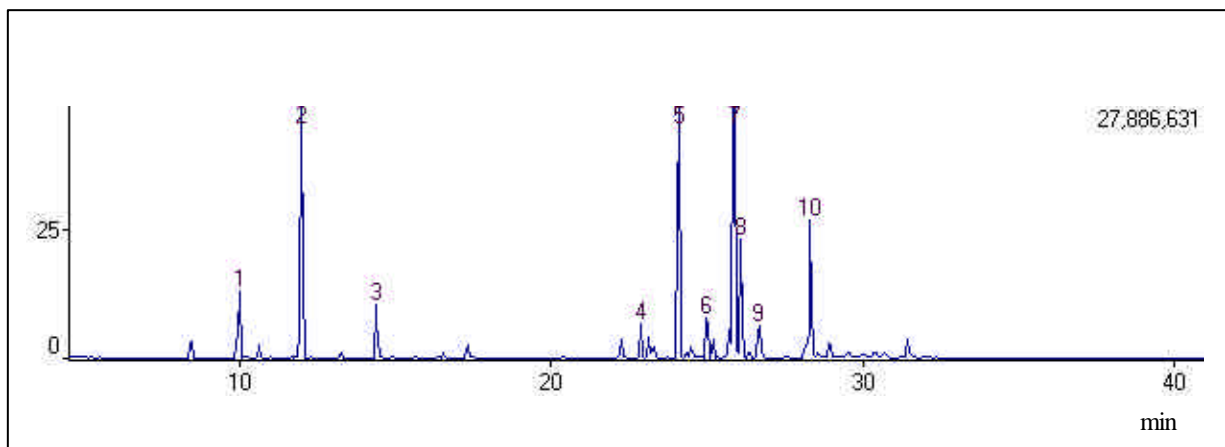


Figura 10. Cromatograma do óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

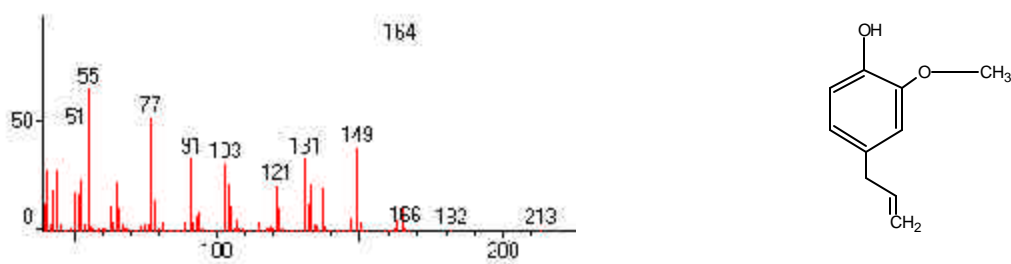


Figura 11. Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de eugenol.

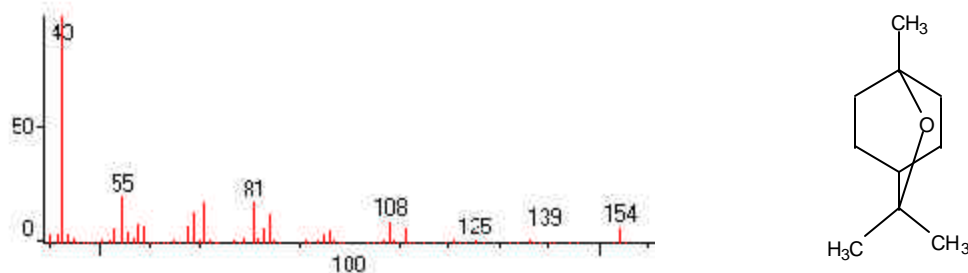


Figura 12. Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de 1,8-cineol.

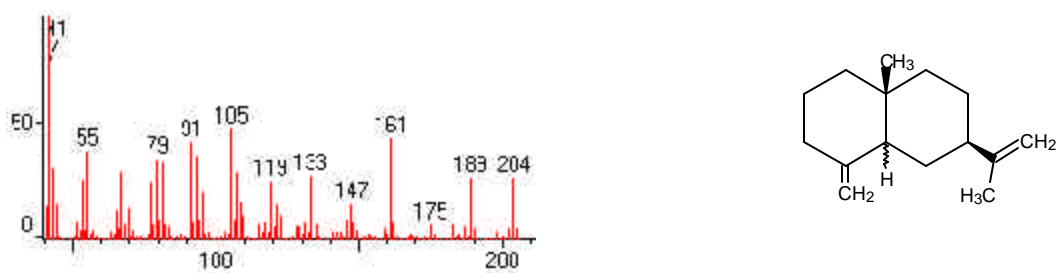


Figura 13. Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de β -selineno.

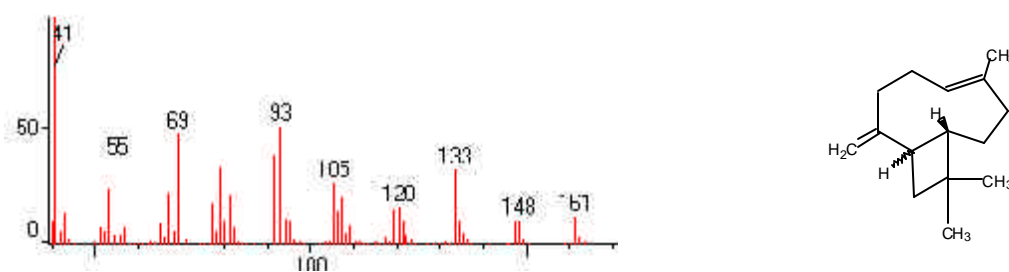


Figura 14. Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de trans-cariophileno.

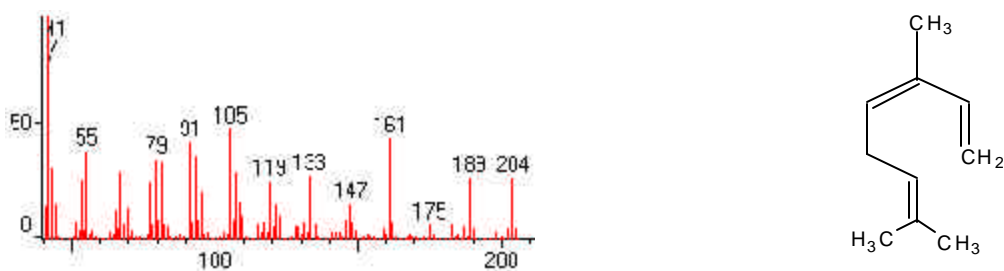


Figura 15. Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de cis-ocimeno.

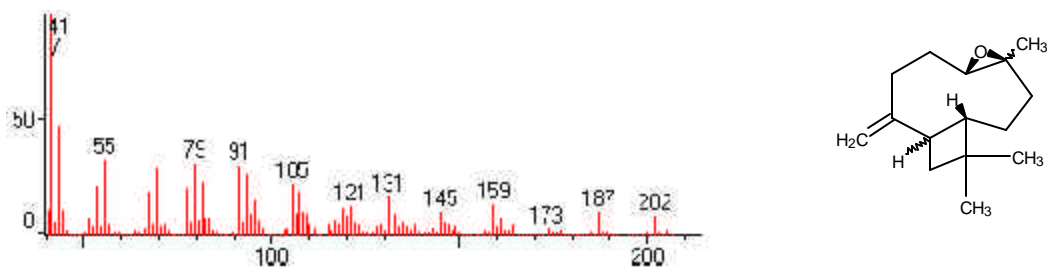


Figura 16. Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de óxido de cariophileno.

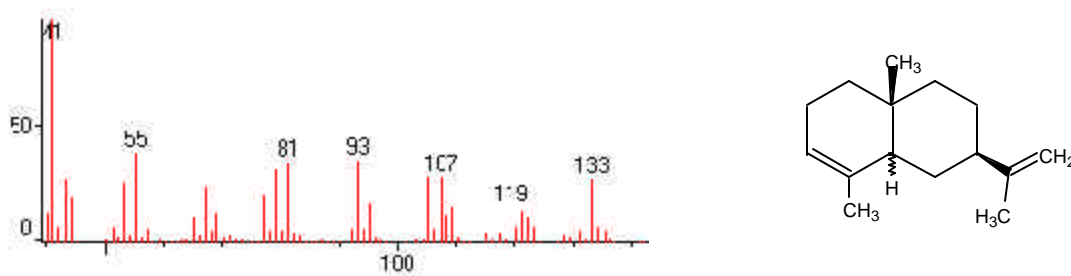


Figura 17. Representação do espectro de massas e da fórmula estrutural de α -selineno.

Na Tabela 21, exposta a seguir, percebe-se que somente o constituinte eugenol do óleo essencial das inflorescências apresentou diferença significativa para doses de adubo. Já em relação às épocas de corte, esses constituintes majoritários foram altamente significativos.

Tabela 21. Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das inflorescências de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	eugenol	β -selineno	1,8-cineol	trans-cariofileno	óxido de cariofileno	α -selineno
Doses de adubo (D)	03	3,1097**	12,4918ns	49,3410ns	2,7143ns	17,7806ns	0,3324ns
Blocos	03	0,0067ns	18,4724ns	53,3723ns	5,5082*	0,5544ns	0,2732ns
Resíduo (a)	09	0,0852	8,2572	20,5543	0,9539	5,1287	0,2594
C.V. (%)		22,57	12,16	17,55	8,06	21,90	10,60
Épocas de corte (E)	03	16,2741**	467,5365**	1800,5726**	228,3727**	138,3239**	10,1602**
Interação Dx E	09	1,5333**	3,9410ns	6,1871ns	2,2866ns	4,5046ns	0,3931ns
Resíduo (b)	36	0,0978	6,6406	24,3851	1,7183	3,0863	0,2742
C.V (%)		22,19	10,91	19,12	10,81	16,99	10,89

*, ** - significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo Teste F;

ns – não significativo.

Os constituintes do óleo essencial das inflorescências, embora tenham os mesmos componentes majoritários do óleo das folhas (Tabela 20), em termos de percentuais diferiram muito, pois o principal composto das folhas (eugenol) que apresentou em média 44,2 %, nas inflorescências esse percentual ficou em média 1,29 %, demonstrando ser a via do acetato predominante neste óleo. Percebe-se também que os constituintes dessa via apresentaram valores superiores em relação às folhas, e ainda houve novos compostos, o óxido de cariofileno e α -selineno, que também são sesquiterpenos, embora praticamente não houve diferenças estatísticas dos mesmos em relação às doses de adubo. Mas é interessante ressaltar que há apenas um monoterpeneo (1,8-cineol) com uma média de 25,83 %, enquanto os sesquiterpenos em média representaram 51 % desse óleo (Tabela 22).

Tabela 22. Componentes (%) do óleo essencial das inflorescências de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	eugenol	1,8-cineol	β -selineno	trans-cariofileno	óxido de cariofileno	α -selineno
00	1,92a	25,59a	24,12a	11,80a	10,12ab	4,95a
04	1,23b	28,00a	23,28a	12,25a	9,14b	4,73a
08	1,13bc	26,02a	22,56a	11,80a	10,42ab	4,65a
12	0,89c	23,72a	24,54a	12,65a	11,69a	4,90a
Média	1,29	25,83	23,62	12,12a	10,34	4,81
DMS	0,32	5,01	3,17	1,08	2,50	0,56
Estações climáticas						
Outono	0,61c	20,80c	24,99b	14,28b	9,43bc	5,44a
Inverno	0,32c	13,54d	30,71a	16,28a	14,59a	5,55a
Primavera	2,48a	36,86a	19,60c	9,18c	7,81c	4,16b
Verão	1,76b	32,12b	19,21c	8,69c	9,53b	4,08b
Média	1,29	25,83	23,63	12,13	10,34	4,81
DMS	0,30	4,70	2,45	1,25	1,67	0,50

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Nas estações climáticas também o eugenol revelou o menor valor no inverno, mas contrariamente às folhas, que tiveram um percentual de 33,73%, aqui apenas o

foi de 0,32%. O 1,8-cineol que foi o monoterpene avaliado neste óleo também sofreu influência de temperaturas mais baixas (inverno) pois o seu percentual registrado ficou em 13,54 %, diferindo estatisticamente das outras estações. Para os sesquiterpenos, percebe-se que houve a ocorrência dos maiores percentuais justamente por ocasião da avaliação do inverno.

Verificou-se que em relação ao rebroto, as variáveis produção de folhas, teores de N e K e quantidade de NPK da produção das folhas foram significativas para ambos os tratamentos, com interação significativa entre eles (Tabela 23). Para produção de caules, inflorescências, total e produção de óleo essencial para folhas e inflorescências os resultados foram também altamente significativos para ambos, com significância para a interação (Tabela 24). Para a relação $C/(F + I)$ houve significância apenas para as doses de adubo e época de corte, mas não para a interação e o rendimento de óleo essencial para as folhas não foi significativo para ambos os tratamentos, mas sim para épocas de corte, enquanto o de inflorescências apresentaram para ambos os tratamentos e interação (Tabela 24).

Tabela 23. Quadrados médios das variáveis produção de folhas (g), teores e quantidade de NPK nas folhas de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	Folhas	Teores			Quantidade		
			N	P	K	N	P	K
Doses de adubo (D)	03	164074,06**	111,95**	0,017ns	445,96**	422,23**	1,96*	266,97**
Blocos	03	3077,52ns	29,06*	0,138ns	5,22ns	16,60ns	0,031ns	38,18ns
Resíduo (a)	09	2753,85	7,50	0,545	16,88	9,80	0,30	10,98
C.V. (%)		9,36	8,19	27,14	21,73	16,86	29,52	23,37
Épocas de corte (E)	03	2764410,84**	205,48**	3,113**	2094,44**	2020,92**	30,36**	1976,65**
Interação Dx E	09	103527,65**	18,10**	0,199ns	117,02**	155,28**	0,97**	87,77**
Resíduo (b)	36	3556,98	4,86	0,241	9,97	9,25	0,22	9,95
C.V (%)		10,64	6,59	18,05	16,70	16,38	28,40	22,25

** - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste F;

ns – não significativo.

Tabela 24. Quadrados médios das variáveis produção de caules, inflorescências e total; relação C/(F+I), rendimento e produção de óleo essencial de folhas e inflorescências de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	Caules	Inflorescências	Total	C/(F + I)	Rendimento de óleo essencial (%)		Produção de óleo essencial (ml/06 plantas)	
						Folhas	Inflorescências	Folhas	Inflorescências
Doses de adubo (D)	03	1030844,08**	85415,94**	2887177,27**	0,0548**	0,0512ns	0,3922ns	130,56**	6,76***
Blocos	03	3445,82ns	411,87ns	17378,75ns	0,0051ns	0,1597ns	0,0229**	40,25*	0,153ns
Resíduo (a)	09	2172,11	1726,67	16021,57	0,0079	0,1142	0,0442	9,78	0,134
C.V. (%)		17,44	16,40	7,58	10,08	17,76	16,53	24,90	15,27
Épocas de corte (E)	03	16978685,99**	1855502,83**	50452642,96**	1,2273**	8,4973**	1,3212**	2936,13**	99,89**
Interação Dx E	09	826864,77**	127404,79**	2493032,12**	0,0105ns	0,1292ns	0,5789ns	69,60**	10,41**
Resíduo (b)	36	2393,18	1700,76	20074,08	0,0055	0,2103	0,0406	17,90	0,363
C.V. (%)		19,35	16,28	8,49	8,40	24,10	15,85	29,69	25,11

** - significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste F;

ns – não significativo.

A adubação orgânica não influenciou a produção de folhas oriundas do rebroto nas duas primeiras épocas de corte, assim como na última (Tabela 25).

Tabela 25. Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	246,35 Ab	582,50 Aa	670,69 Da	200,08 Ab
04	254,37 Ac	591,05 Ab	1127,96 Ca	218,61 Ac
08	262,42 Ac	588,26 Ab	1283,72 Ba	283,06 Ac
12	276,78 Ad	610,31 Ab	1465,35 Aa	309,40 Ac

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Na estação onde houve diferença estatística (primavera), a ausência de adubação causou uma menor produção de folhas em relação às demais que foram submetidas à adubação, sendo uma diferença de quase o dobro da testemunha (670,69 g) para a primeira dose (4 kg/m² – 1127,96 g), com comportamento linear explicado por um R² de 93 % (Figura 18).

Comparando-se a idade das plantas do primeiro corte com a época de avaliação do rebroto e ainda o tempo em que as plantas estiveram sob o efeito das adubações, verificou-se que por ocasião do primeiro corte as plantas a partir da sua germinação até a ocasião do primeiro corte tinham aproximadamente 210 dias de idade (07 meses), mas há apenas 70 dias em contato com a adubação, enquanto que para as do rebroto decorreram 90 dias para a formação de uma nova parte aérea, e a produção ainda do rebroto foi abaixo daquela obtida por ocasião do corte realizado na primeira avaliação (Tabela 7).

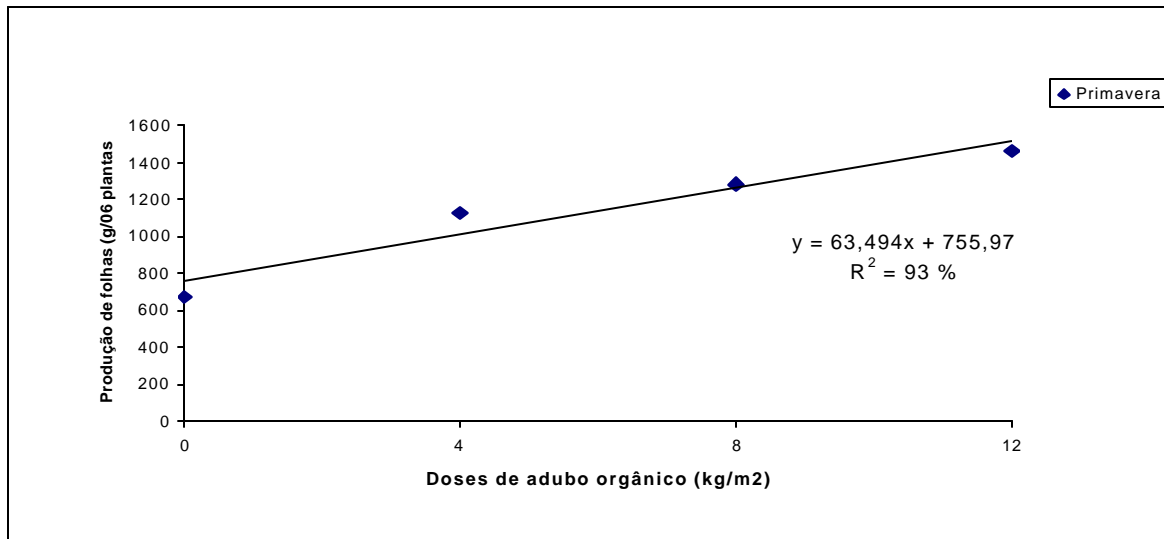


Figura 18. Produção (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Ainda merece destacar que por ocasião da avaliação do rebroto do outono a avaliação foi realizada no inverno, e como foi mencionado anteriormente, foram registradas as mais baixas temperaturas (Figura 3).

A estação seguinte (primavera) que por sua vez foi avaliada no verão, apresentou, como já mencionado anteriormente, diferença estatística entre as doses, com a ausência da mesma revelando uma menor produção de folhas. Esta resposta do rebroto da primavera avaliado no verão demonstrou a grande capacidade que o rebroto teve em disponibilizar todo o seu potencial de recuperação em apenas 90 dias, e isto deve estar relacionado ao fato da ocorrência de altas temperaturas e umidade relativa, proporcionadas pelas maiores precipitações ocorridas. Estas produções foram inferiores, e no caso dos tratamentos com adubo, esse diferencial ficou em média 500 g a menos. Podem ser associados alguns fatores, como uma maior idade da planta, uma menor disponibilidade de nutrientes, principalmente na testemunha e 4 kg/m², pois o diferencial para menos foi de

aproximadamente 100 e 400 g, enquanto nas outras doses chegaram a 500 e 700 g, respectivamente. E isto pode ser visualizado na quantidade de nutrientes extraída, pois NPK não apresentou diferença estatística entre as doses 8 e 12 kg/m² (Tabelas 26, 27 e 28).

Tabela 26. Extração de N (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	8,81Bb	17,53Aa	14,64Ca	6,58Ab
04	9,00Bc	21,40Ab	31,25Ba	7,08Ac
08	9,94Bc	23,06Ab	41,52Aa	9,79Ac
12	16,84Abc	22,16Ab	46,52Aa	11,29Ac

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 27. Extração de P (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	0,50Ab	1,34Aab	2,16Ca	0,65Ab
04	0,49Ac	1,53Ab	3,63Ba	0,62Ac
08	0,64Ac	1,68Ab	4,08Aba	0,73Ac
12	1,06Ab	1,70Ab	4,60Aa	0,89Ab

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 28. Extração de K (g/06 plantas) de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	4,55Bb	9,95Aab	15,69Ca	4,75Ab
04	5,99ABb	11,98Ab	29,59Ba	5,99Ab
08	6,80Abc	13,06Ab	35,89Aa	7,02Ac
12	11,62Ab	14,30Ab	40,48Aa	9,16Ab

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Na última avaliação (outono) parece que esses fatores vêm se confirmar, pois nesta ocasião as plantas têm maior idade neste experimento. Furlan (2000) e Balyan & Singh (1992) verificaram aumento na produção de caules em dois estudos com *Ocimum spp.* Em relação à idade da planta, isso pode ser visualizado nas fotos a seguir (Figuras 19 e 20) que se referem à condição da mesma após o primeiro e último corte, ou seja, outono e verão, mostrando a diferença nos diâmetros dos caules, assim como a ocorrência (permanência) de folhas na parte mais basal dos caules.

As respostas para os teores de NPK (Tabelas 29, 30 e 31) de certa forma acompanharam a mesma tendência observada para o primeiro corte (Tabelas 11, 12 e 13), com exceção para o último corte (verão, avaliado no inverno) quando observou-se uma acentuada queda na produção de folhas (Tabela 25).



Figura 19. Detalhes da espessura do caule após o primeiro corte (outono: \varnothing 14,4 mm).
UNESP/Botucatu – SP, 2000-01. (Foto: Francisco Célio Maia Chaves)



Figura 20. Detalhes da espessura do caule após o quarto corte (verão: \varnothing 25,75 mm).
UNESP/Botucatu – SP, 2000-01. (Foto: Francisco Célio Maia Chaves)

Tabela 29. Teores de N (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	35,77Aa	30,31Bb	21,73Bc	32,41ABab
04	35,24Aab	36,33Aa	27,68Ac	31,71Bbc
08	35,84Aab	37,73Aa	31,71Ab	34,65ABab
12	37,94Aa	37,62Aa	32,05Ab	36,50Aa

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 30. Teores de P (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	P
00	2,68a
04	2,73a
08	2,71a
12	2,76a
Média	2,72
DMS	0,82
Estações climáticas	
Outono	2,15c
Inverno	2,64b
Primavera	3,19a
Verão	2,90ab
Média	2,72
DMS	0,47

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Tabela 31. Teores de K (g/kg de massa seca) de folhas de toda parte aérea de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	K
00	2,06b
04	2,43a
08	2,47a
12	2,67a
Média	2,41
DMS	0,36
Estações climáticas	
Outono	2,30b
Inverno	2,08b
Primavera	2,62a
Verão	2,63a
Média	2,41
DMS	0,30

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

A produção de caules apresentou diferenças estatísticas para os rebrotos avaliados no verão e outono. Obteve-se as maiores produções por ocasião do verão, assim como no primeiro corte, mas no rebroto os valores foram bem abaixo destes. No verão e outono, a ausência de adubação proporcionou os menores valores (Tabela 32).

Tabela 32. Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	184,92 Ac	539,11 Ab	1036,31 Da	215,77 Bc
04	197,43 Ac	538,90 Ab	2553,52 Ca	228,80 Bc
08	196,88 Ad	563,81 Ab	2778,23 Ba	363,96 Ac
12	189,15 Ad	572,16 Ab	3166,73 Aa	362,05 Ac

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Ainda entre a produção do verão, percebe-se que a ausência de adubação e a maior dose, ficou em torno de 2100 g, o que determinou na anterior uma maior curvatura da reta, com um ângulo de inclinação maior, enquanto no rebroto foi mais suave essa curva, com ambas apresentando os R^2 bem próximos (Figura 21). No outono, isso se caracterizou, mas neste caso não houve diferença entre 0 e 4 kg/m², e sim entre essas duas e as duas últimas, com uma maior proximidade ao eixo dos x, portanto uma inclinação bem menor, mas os valores foram tão inferiores, que houve uma diferença em média, de aproximadamente 3400 g.

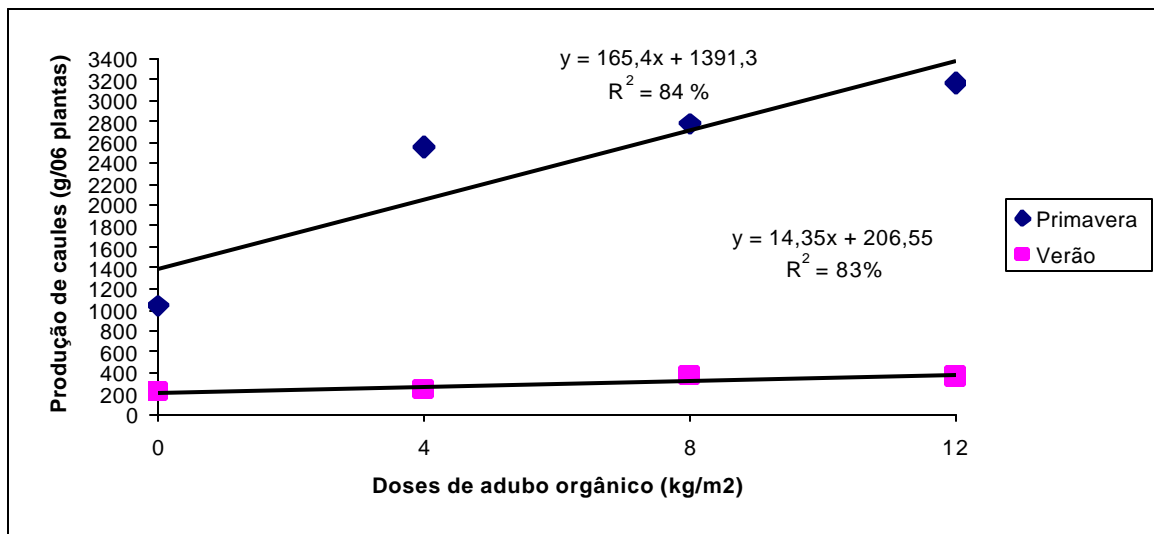


Figura 21. Produção (g/06 plantas) de caules de alfavaca-cravo, oriundos do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Ao ser associada a produção de caules com a produção de folhas, em que houve uma redução, possivelmente isso influenciou uma redução na fotossíntese, comprometendo a produção dos componentes da planta, e ainda pode-se associar com o fato de que do verão para o outono os dados referentes às temperaturas já demonstraram o início da

queda das temperaturas, o que vai caracterizar a estação seguinte (inverno) por baixas temperaturas e redução na precipitação pluviométrica, com valores mínimos para a umidade relativa.

A produção de inflorescências só foi influenciada pelas doses de adubo no rebroto da primavera avaliado no verão (Tabela 33).

Tabela 33. Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	44,31 Ab	118,40Aa	258,15Ca	47,98 Ab
04	49,52 Ab	120,08Ab	878,54Ba	51,70 Ab
08	60,34 Ab	130,59Ab	902,27Aa	54,50 Ab
12	60,79Ac	215,64Ab	1000,72Aa	59,62 Ac

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Na testemunha a produção foi muito inferior às demais doses, pois essa diferença ficou em torno de mais de 500,0 g, para a dose imediatamente superior, e com diferença sempre crescente para as outras duas, e isto ficou bem caracterizado na Figura 22, onde $R^2 = 93 \%$, confirmou essa tendência na resposta.

Ao se comparar a avaliação do verão do primeiro corte com a do rebroto (avaliada no verão), percebe-se que por ocasião do rebroto houve uma maior produção de inflorescências nas outras doses, com exceção para a testemunha. Considerando que ao ser realizado o corte, houve uma renovação da copa da planta, deixando os ramos e folhas mais tenros, isso vale também para as estruturas reprodutivas. Considerando o prazo de 90 dias entre o primeiro corte e a avaliação do rebroto, se comparado com o corte do verão, em que as plantas tinham a idade mais avançada, conclui-se que a renovação proporcionada pelo corte

resultou ao rebroto um tempo maior de permanência dessas estruturas na planta, em estádios mais verdes.

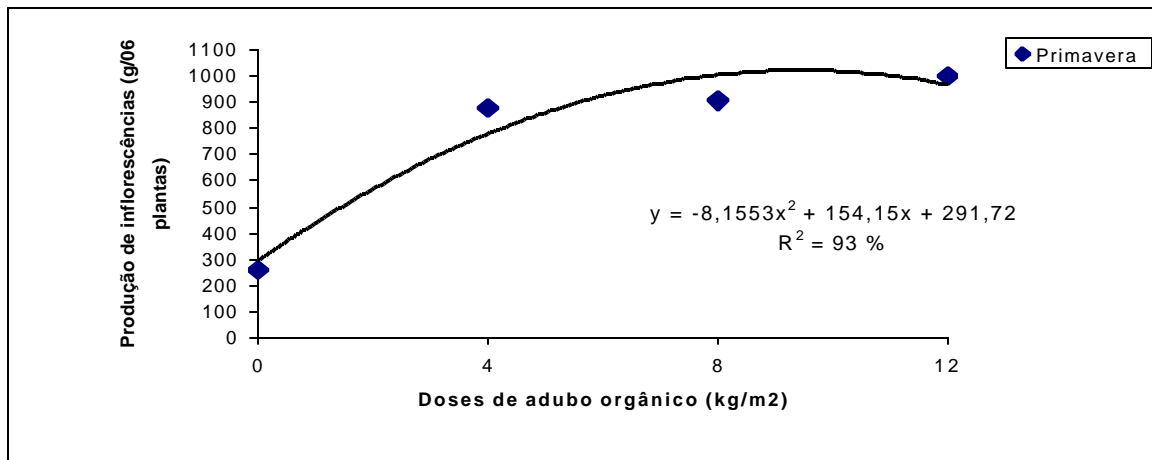


Figura 22. Produção (g/06 plantas) de inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

No corte do verão (avaliado no outono) essa queda na produção está associada aos componentes anteriores, que foram a menor produção de folhas e caules, assim como fatores abióticos, pois nesta avaliação já registram-se queda nas temperaturas, redução na umidade relativa, e maior produção de caules, com aumento no diâmetro desses, e o fato de haver menor quantidade extraída de nutrientes pelas folhas.

A produção total do rebroto apresentou diferença estatística apenas nos rebrotos da primavera e do verão avaliados no verão e outono, respectivamente, com diferença estatística entre todas as doses utilizadas na primavera e somente entre a ausência e todas as demais no verão (avaliados respectivamente no verão e outono) (Tabela 34).

Tabela 34. Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, oriunda do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	475,58 Ac	1337,02 Ab	1965,16 Da	463,83 Bc
04	501,33 Ac	1250,03 Ab	4559,97 Ca	498,41 Ac
08	519,64 Ac	1286,66 Ab	4964,22 Ba	701,52 Ac
12	526,72 Ac	1398,12 Ab	5632,81 Aa	731,08 Ac

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem significativamente, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

Essas diferenças entre a ausência e as doses utilizadas também seguiram o verificado para os componentes avaliados isoladamente, em que o comportamento da reta foi linear, e ainda isto associado a um R² de 84 %, igual ao dos caules e inferior aos das folhas. Na primavera (avaliado no verão), a ausência de adubo diferiu muito de onde foi aplicado o mesmo, com uma diferença de mais de 2500,00 g apenas para a segunda dose (4 kg/m²) e essa diferença foi crescente em função do aumento dessas doses, com esse aumento

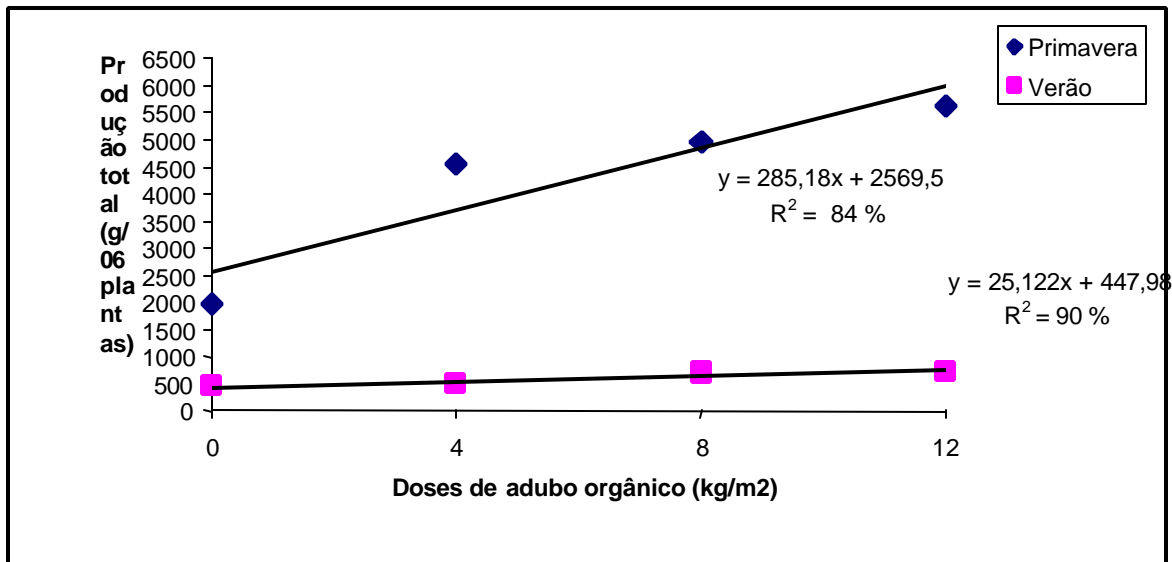


Figura 23. Produção (g/06 plantas) total de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

sendo linear (Figura 23). No verão (avaliado no outono) houve diferença somente entre a ausência em comparação com as outras doses, mas com uma amplitude observada muito menor daquelas constatadas na avaliação anterior.

Esta produção por ser função do desempenho dos outros componentes (folhas, caules e inflorescências) esteve, assim como nos primeiros cortes, mais dependente da produção de caules, do que de folhas e inflorescências, com exceção para o outono, onde registrou-se uma produção de folhas maior do que de caules, quando nesta ocasião as plantas tinham idade bem menor em relação às outras avaliações (inverno, primavera e verão) (Figuras 19 e 20).

Na Tabela 35 estão relacionadas as médias da relação C/(F+I) e os rendimentos do óleo essencial para folhas e inflorescências.

Tabela 35. Relação C/F+I e rendimento (%) de óleo essencial de folhas e inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	C/F+I	Rendimento de óleo essencial (%)	
		Folhas	Inflorescências
00	0,81b	1,88a	1,12b
04	0,85ab	1,91a	1,48a
08	0,94a	1,98a	1,30ab
12	0,92a	1,85a	1,18b
Média	0,88	1,90	1,29
DMS	0,10	0,37	0,23
Estações climáticas			
Outono	0,61 d	1,09 c	1,44 a
Inverno	0,73c	1,75 b	1,45 a
Primavera	1,24 a	2,86a	0,85 b
Verão	0,95b	1,91 b	1,34 a
Média	0,88	1,90	1,27
DMS	0,10	0,44	0,19

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Observou-se que os resultados em termos de significância da relação $C/(F+I)$ foram similares para o primeiro corte (Tabela 17), mas em sentido contrário, pois aqui a testemunha apresentou menor valor, diferindo da dose seguinte (4 kg/m^2) e esta não diferindo para as outras doses (8 e 12 kg/m^2). Embora apresente essa significância, percebe-se que numericamente as médias ficaram bem abaixo das obtidas para essa relação quando fez-se o primeiro corte.

Pelas Tabelas 7, 14 e 15 percebe-se que as produções obtidas no primeiro corte foram bem maiores em relação ao do rebroto. Aliado a isso a diferença entre a produção da testemunha em relação às doses utilizadas foi bem maior, principalmente para os caules, o que não aconteceu com a testemunha do rebroto, refletindo os valores de 1,23 e 0,81 respectivamente. Para as doses seguintes, constatou-se que houve um aumento dessa relação à medida que aumentava as doses até 8 kg/m^2 , embora entre elas não ocorreu diferença estatística. Um dos motivos que talvez tenha levado a isso foi o fato das inflorescências terem produzido mais e significativamente no caso das doses 00 e 04 kg/m^2 no inverno assim como no outono, embora a produção total tenha seguido esse aumento com as doses, o aumento na produção de caule, nas doses 08 e 12 na primavera e verão foi bem maior para ambas, respectivamente.

Para as estações observa-se que no outono, avaliado no inverno, obteve-se a menor média para essa relação, com o valor de 0,61, enquanto no primeiro corte também obteve-se o menor valor para essa variável que foi de 0,38 (Tabela 17). Estes resultados seguem a mesma tendência observada no rendimento de óleo essencial no experimento das épocas de colheita, com maiores rendimentos nas estações mais quentes e chuvosas. Nesta avaliação obteve-se uma pequena produção de caules, e considerável

produção de folhas. No corte seguinte (inverno) avaliado na primavera já se percebe uma maior produção de caules, enquanto as produções de folhas e inflorescências não acompanharam essa tendência.

Os rendimentos de óleo essencial para as doses de adubo em folhas obtidas no rebroto situaram-se abaixo daquelas obtidas para o primeiro corte, mas em ambas não houve diferença significativa para as doses. Enquanto no primeiro corte verificou-se um comportamento decrescente com o aumento crescente das doses de adubo, neste caso somente até a dose de 8 kg/m^2 isto foi verificado. O fato de ser oriundo do rebroto significa uma nova formação de estruturas vegetativas em função da juvenilidade dos novos ramos em função do corte.

O rendimento de inflorescências em função das doses de adubo e das épocas de cortes apresentaram diferenças estatísticas entre esses fatores, no rebroto, e foi bem maior quando comparado com aquelas obtidas por ocasião do primeiro corte (Tabela 17). Considerando-se que o corte do caule induz a planta à formação de rebroto e neste caso por tratar-se de um arbusto, as novas formações terão mais acentuada o efeito da juvenilidade e o intervalo entre as estações ser de apenas 90 dias, não foi suficiente para o amadurecimento completo dessas inflorescências, pois em relação ao primeiro corte essas se encontravam já totalmente maduras, embora houvesse a emissão de novas estruturas, mas o tempo necessário para as avaliações foi bem maior e em plantas que não tinham sido cortadas por ocasião da avaliação, e permaneciam com a sua estrutura inicial.

Os maiores rendimentos nas inflorescências foram verificados para as doses 4 e 8 kg/m^2 . As folhas tiveram a mesma tendência, ou seja, quando se teve maior

rendimento nas folhas, no geral, houve também maior rendimento nas inflorescências, em função das doses de adubo até 8 kg/m².

Considerando-se que a avaliação do rebroto foi feita sempre na estação seguinte, o menor valor para o outono (1,09 – Tabela 35) está de acordo com aquele encontrado para o inverno, referente ao primeiro corte quando a média foi de 1,08 (Tabela 17) e à medida que se avançava nas estações, e correspondendo ao aumento das temperaturas, verifica-se um aumento no rendimento, com significância estatística. A maior média entre as estações foi verificada na avaliação do verão.

Para as inflorescências, a resposta em relação ao corte da primavera (avaliada no verão) ocorreu em sentido inverso às folhas, pois ocorreu a menor média, e com diferença estatística para as demais avaliações, onde não houve diferença estatística entre as mesmas. Nos resultados de rendimento de óleo essencial no experimento de épocas de corte, ocorreu o inverso, com maiores rendimentos no verão. Essa situação talvez possa ser explicada pelo fato de no experimento de épocas de corte, a parte das plantas avaliadas no verão estarem mais velhas que as avaliadas no rebroto. Verifica-se uma emissão continuada de inflorescências nesta espécie, então, com a maior idade, haverá um número maior de inflorescências maduras nas plantas mais velhas do que nas partes rebrotadas (que tinham inflorescências mais jovens). Pode-se inferir então que inflorescências mais maduras produzem maiores teores de óleo essencial que inflorescências mais jovens.

Nos rebrotos verificou-se que as doses de adubo orgânico utilizadas no experimento só influenciaram na produção de óleo essencial na primavera (avaliada no verão) (Tabela 36, Figura 24) com o maior valor absoluto para a maior dose (12 kg/m²), diferindo das demais. A produção obtida nesta dose representou o dobro daquela oriunda da testemunha.

Tabela 36. Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	2,46Ab	8,53Ab	20,79Ca	3,83Ab
04	2,64Ab	10,22Ab	31,04Ba	4,44Ab
08	2,92Ac	11,31Ab	34,75Ba	5,54Ab
12	3,37Ab	11,26Ab	42,65Aa	5,14Abc

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem entre si, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

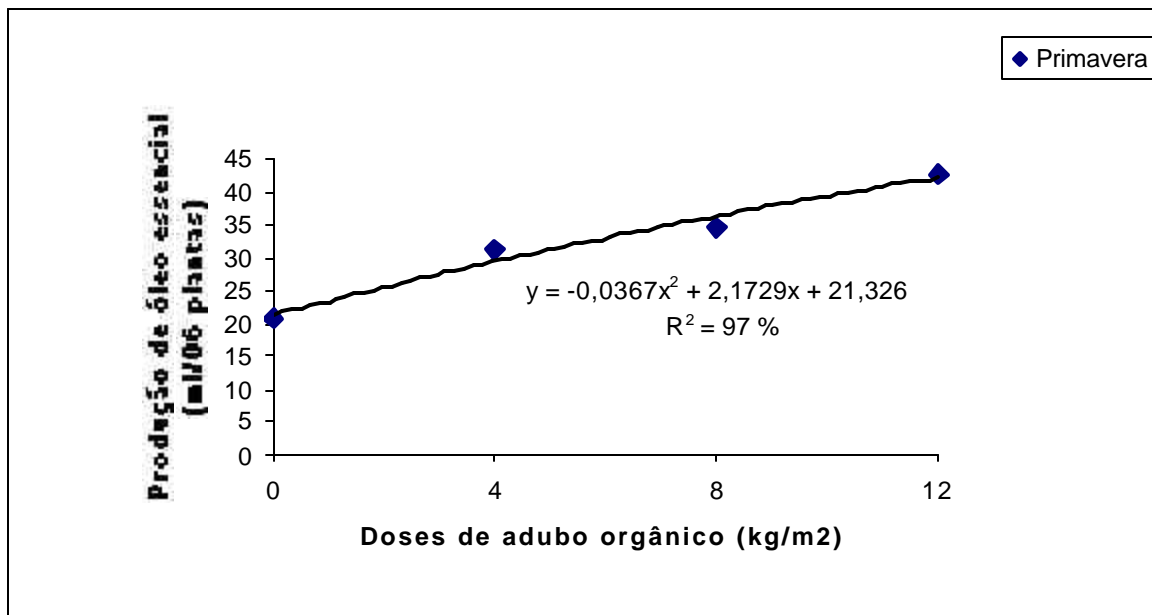


Figura 24. Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Esta produção, como mencionado anteriormente, por advir do resultado da produção de folhas (Tabela 25) x rendimento de óleo essencial de folhas (Tabela 35) vindo demonstrar que essa produção obtida no rebroto da primavera foi influenciada pelo rendimento observado nesta época de corte, onde obtive-se 2,86 %, sendo o maior e diferente estatisticamente das demais épocas avaliadas, resultando na maior dose 42,65 mL/06 plantas, com valor bem abaixo do máximo obtido por ocasião do primeiro corte (Tabela 17 – 76,96 mL/06 plantas).

A produção de óleo essencial observada nas inflorescências ficou bem abaixo daquela observada por ocasião das avaliações do primeiro corte, como pode-se verificar para a primavera (avaliada no verão) na dose 12 kg/m, que diferiu estatisticamente das demais doses (Tabela 37, Figura 25), sendo verificado também que houve maior produção de folhas (Tabela 25) nesta época de corte, embora com um menor rendimento de óleo essencial (Tabela 35), mas a produção de folhas foi suficiente para ocasionar esta resposta na produção de óleo essencial. Na época de corte seguinte, observou-se que a produção de óleo foi tanto quanto mais baixa quando comparada aos valores obtidos por ocasião do primeiro rebroto (outono), pois como mencionado anteriormente, a produção de folhas nesta última avaliação mostrou valores comparados ao do último corte.

Tabela 37. Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	Outono	Inverno	Primavera	Verão
00	0,50Ac	1,53Ab	2,25Da	0,65Ac
04	0,56Ac	2,15Ab	5,28Ca	0,68Ac
08	0,67Ac	2,11Ab	7,22Ba	0,70Ac
12	1,45Ac	2,45Ab	9,38Aa	0,79Ac

Médias seguidas de mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem entre si, ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste Tukey.

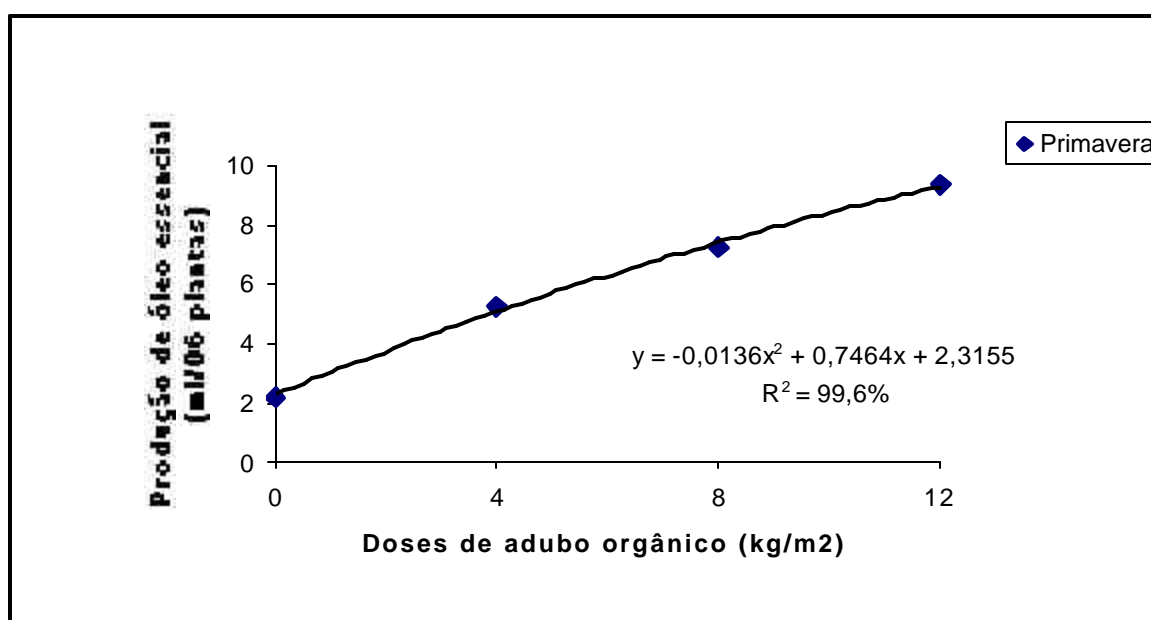


Figura 25. Produção (mL/06 plantas) de óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Para as doses de adubo, nenhum dos constituintes majoritários apresentou significância estatística, enquanto para épocas de corte todos foram, sendo que o β -selineno, trans-cariofileno e cis-ocimeno também apresentaram significância estatística para a interação (Tabela 38).

Tabela 38. Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das folhas do rebroto de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	eugenol	1,8-cineol	β -selineno	trans-cariofileno	cis-ocimeno
Doses de adubo (D)	03	15,8040ns	4,6379ns	1,3387ns	0,5467ns	0,7711ns
Blocos	03	91,2205ns	20,9330*	7,4404*	1,3884ns	0,0066ns
Resíduo (a)	09	26,4931	3,5308	1,8225	1,0942	0,5231
C.V. (%)		11,75	8,02	17,21	19,57	16,59
Épocas de corte (E)	03	201,2695*	252,9106**	49,2841**	18,3387**	9,2647**
Interação Dx E	09	31,7712ns	5,4721ns	4,9050**	3,6075**	0,7682**
Resíduo (b)	36	47,5620	9,8423	1,5838	0,7868	0,2415
C.V. (%)		15,75	13,38	16,05	16,60	11,27

*, ** - significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo Teste F;
 ns – não significativo.

Similarmente aos componentes do óleo essencial das folhas e inflorescências do primeiro corte (Tabelas 20 e 22), o óleo das folhas do rebroto também apresentou na sua constituição os mesmos principais componentes, e com médias muito próximas, com exceção para eugenol obtido das inflorescências do rebroto, ou seja, verificou-se também que estes advêm das duas vias biossintéticas já mencionadas (Tabela 39).

Tabela 39. Componentes (%) do óleo essencial das folhas de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	eugenol	1,8-cineol	β -selineno	trans-cariofileno	cis-ocimeno
00	45,27a	22,97a	7,71a	5,36a	4,09a
04	43,53a	23,50a	7,96a	5,40a	4,27a
08	43,21a	24,18a	7,52a	5,09a	4,55a
12	43,19a	23,12a	8,18 a	5,53a	4,53a
Média	43,80	23,44	7,84	5,34	4,36
DMS	5,69	2,08	1,49	1,15	0,80
Estações climáticas					
Outono	42,70ab	23,33b	8,78a	5,57b	3,82b
Inverno	39,25b	27,04a	6,89b	5,20b	5,49a
Primavera	46,61a	25,46ab	5,92b	4,01c	4,02b
Verão	46,63a	17,93c	9,78a	6,60a	4,10b
Média	43,80	23,44	7,84	5,34	4,36
DMS	6,57	2,99	1,20	0,84	0,47

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Apesar das plantas terem sido submetidas ao corte da sua parte aérea e isso favorecido o surgimento do rebroto, a presença destes mesmos contituíntes vem confirmar que o metabolismo secundário é controlado geneticamente. (Trapp & Croteau, 2001). Para todos os constituintes mencionados e considerando-se as doses de adubo, constatou-se que não houve diferenças estatísticas entre os mesmos, enquanto no primeiro corte trans-cariofileno e cis-ocimeno apresentaram diferenças em relação às doses. Eugenol e 1,8-cineol na ausência da

adubação tiveram o mesmo comportamento em termos numéricos comparados ao primeiro corte, ou seja, na testemunha o eugenol foi um pouco superior às outras doses, e o 1,8-cineol apresentou valor numérico um pouco menor em relação às demais doses. Cis-ocimeno também apresentou menor valor para a ausência de adubação orgânica. Para β -selineno e trans-cariofileno as maiores médias foram observadas para a maior dose (12 kg/m²). Hornok (1983) e Maia et al. (2001) constataram aumento no teor de constituintes majoritários na ausência de adubação, enquanto Mahdi et al. (1987) verificaram aumento no percentual de constituintes do óleo essencial de *Eucalyptus spp.* com aumento dos níveis de adubação.

Nas estações climáticas constatou-se diferença estatística entre as mesmas para os constituintes do óleo essencial das folhas oriundas do rebroto. O eugenol também apresentou menor percentual para o corte realizado na época mais fria, ou seja, o rebroto do outono avaliado no inverno teve um valor de 39,25 % para o eugenol. Para as outras estações, que vão da primavera, passando pelo verão e depois outono, o eugenol apresentou aumento neste percentual até o verão, e isto acompanhou também o aumento das temperaturas, que foram máximas nestas estações, onde este componente apresentou o valor de 46,61 % não diferindo do valor do outono (46,63%).

Para os componentes da via do acetato, o cis-ocimeno (monoterpeno) apresentou maior valor quando do corte do outono, avaliado no inverno, e o 1,8-cineol apresentou os menores valores nas estações mais frias, que foram avaliadas no inverno e outono, com os valores de 23,33 % e 17,93 %, respectivamente. Os sesquiterpenos (β -selineno, trans-cariofileno) contrariamente aos monoterpenos, apresentaram os maiores valores nos cortes realizados no outono e verão, ou seja, quando os rebrotos foram avaliados no inverno e outono, respectivamente.

Uma avaliação mais profunda merece destaque à luz das amplitudes que o eugenol (chiquimato) e 1,8-cineol (acetato), componentes majoritários das duas vias, respectivamente. Enquanto no primeiro corte o eugenol apresentou uma diferença de aproximadamente 20 % entre as amplitudes máxima e mínima, o 1,8-cineol ficou em torno de 10 %. No rebroto, o eugenol situou-se em torno de 7 %, enquanto a amplitude para o 1,8-cineol ficou nos mesmos 10 % anteriormente verificados, sugerindo que o efeito do corte em promover uma regeneração em função do rebroto, parece, no caso do eugenol, que o tempo de 03 meses (90 dias) de idade para o rebroto não foi suficientemente longo para causar uma maior diferença entre as avaliações dos rebrotos nas várias épocas de corte.

Para os constituintes do óleo essencial das inflorescências do rebroto, nenhum deles apresentou significância para o tratamento principal, embora para as épocas de corte todos foram significativos. Com exceção do eugenol, os outros também foram para a interação. (Tabela 40).

Tabela 40. Quadrados médios dos componentes do óleo essencial das inflorescências do rebroto de alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2000-01.

Causas de Variação	G.L.	eugenol	1,8-cineol	β -selineno	trans-cariofileno	óxido de cariofileno	α -selineno
Doses de adubo (D)	03	4,22ns	13,4767ns	1,6743ns	2,7347ns	3,3461ns	0,2118ns
Blocos	03	0,60ns	3,7604ns	1,6474ns	3,3746ns	2,4241ns	0,1733ns
Resíduo (a)	09	9,09	4,8325	6,2224	1,3290	1,3526	0,1668
C.V. (%)		22,74	8,22	12,58	9,94	14,02	9,06
Épocas de corte (E)	03	1526,32**	1301,1190**	495,7654**	351,0331**	353,3739**	12,7069**
Interação Dx E	09	1,32ns	42,0871**	11,7476*	2,2580*	6,3056**	0,4431*
Resíduo (b)	36	6,82	3,8021	4,4876	0,9821	1,4386	0,1809
C.V (%)		21,02	7,29	10,69	8,54	14,46	9,44

*, ** - significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo Teste F;

ns – não significativo.

Nas inflorescências do rebroto (Tabela 41), os constituintes foram os mesmos por ocasião do primeiro corte (Tabela 22), também com percentuais bem próximos em termos de média, com exceção para o eugenol e β -selineno. O eugenol teve uma média bem superior ao primeiro corte, enquanto o β -selineno teve seu valor decrescido por ocasião da avaliação do rebroto.

Tabela 41. Componentes (%) do óleo essencial das inflorescências de alfavaca-cravo, oriundas do rebroto, em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu - SP, 2000-01.

Doses de adubo (kg/m ²)	eugenol	1,8-cineol	β -selineno	trans-cariofileno	óxido de cariofileno	α -selineno
00	10,34a	26,82a	20,19a	11,11a	8,44a	4,67a
04	11,66a	28,03a	19,98a	11,77a	8,17a	4,48a
08	10,50a	26,10a	19,47a	12,07a	7,74a	4,39a
12	10,99a	26,07a	19,64a	11,45	8,83a	4,49a
Média	10,87	26,75	19,82	11,60	8,29	4,51
DMS	3,85	2,43	2,76	1,27	1,28	0,45
Estações climáticas						
Outono	tr	13,44c	26,65a	18,57a	13,50a	5,68a
Inverno	5,82b	32,90a	17,41c	9,72b	7,55c	4,16c
Primavera	4,66b	31,62a	21,53b	8,44c	9,85b	4,62b
Verão	22,13a	29,06b	13,69d	9,66b	2,28d	3,57d
Média	10,87	26,75	19,82	11,60	8,29	4,51
DMS	2,30	1,86	2,02	0,94	1,14	0,40

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

Nos contituintes das inflorescências do rebroto, não houve diferença estatística para nenhum deles em relação às doses de adubo.

Comparando-se o percentual observado nas inflorescências do primeiro corte em relação ao eugenol, constata-se que nas inflorescências do rebroto houve um aumento de aproximadamente 10 vezes mais, o que possivelmente pode estar associado não à

influência das doses de adubação, mas ao efeito do corte ter sido favorecido pela regeneração de novos ramos e ter transcorrido apenas 90 dias para a avaliação dos referidos rebrotos.

Nas estações climáticas o eugenol do rebroto do outono avaliado no inverno apresentou percentuais tão baixos que não puderam ser identificados nas análises fitoquímicas através dos cromatogramas do óleo essencial. Nas outras estações esse percentual aumenta, com as avaliações (cortes) dos rebrotos do inverno e primavera (avaliados na primavera e verão) apresentando os seguintes percentuais: 5,82 e 4,66 %. No corte do verão que teve seu rebroto avaliado no outono obteve-se o maior percentual para essas estruturas em todo o experimento, com um valor de 22,13 %.

Para o 1,8-cineol (monoterpeno) constatou-se que o menor valor foi obtido por ocasião do rebroto do outono mas que foi avaliado no inverno, tendo acontecido o mesmo por ocasião do primeiro corte, onde o inverno apresentou esse mesmo resultado.

7. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O estado da arte do cultivo certamente não é mais o mesmo quando o objeto de trabalho é uma espécie medicinal, pois enquanto o cultivo das espécies alimentares com o avanço do desenvolvimento da cultura “exterioriza” em muitos casos o produto do desejo do ser humano, as plantas medicinais os mantêm em estruturas especializadas, que então será, após a colheita, quantificada a sua produção pelo homem e portanto utilizada.

O entendimento dessa dinâmica certamente se constitui em uma base para o cultivo, visto que a mesma está na dependência de fatores bióticos e abióticos que regulamentam todo esse processo que envolve o metabolismo secundário.

Se considerarmos apenas o estado nutricional, muito ainda terá que vir com o suporte da ciência, pois se as principais culturas alimentares de certa forma já

“dispõem” de princípios, métodos e técnicas de avaliação do estado nutricional, e que este é avaliado simplesmente em fazer uma comparação entre amostra e padrão entendendo-se que amostra é uma planta ou um conjunto de planta (uma cultura inteira ou parte da mesma) e padrão significa uma planta ou um conjunto de plantas “normais” do ponto de vista da sua nutrição (Malavolta et al., 1997), percebe-se que para as plantas medicinais nem a direção do primeiro passo foi definida.

Na realização deste trabalho pode-se constatar também que até então há poucas pesquisas com espécies medicinais quando nos referimos às arbustivas, principalmente em relação à adubação, épocas de corte/colheita, rebroto, etc. e se pensarmos em termos de *Ocimum gratissimum* L. isso é ainda mais preocupante, pois somente obteve-se algumas referências de origem indiana, não disponíveis nas nossas bibliotecas e bases de referências, tendo-se acesso as mesmas através de pedido no exterior.

8. CONCLUSÕES

1 – Primeiro corte:

- a) As doses crescentes de adubação orgânica e a maior idade de época de colheita da planta (corte do verão), favoreceram um aumento na produção das folhas, caules e inflorescências da parte aérea e na produção total da alfavaca-cravo;
- b) O rendimento de óleo essencial das folhas e inflorescências não foi significativo em função das doses de adubo utilizadas;
- c) O rendimento de óleo essencial foi influenciado pela idade de corte e estações climáticas para folhas e inflorescências, com o último corte no verão apresentando superioridade em relação às demais estações climáticas;

- d) A produção de óleo essencial das folhas foi influenciada pelas doses de adubo orgânico e épocas de corte, alcançando-se a maior produção (76,96 mL/06 plantas) na maior dose utilizada (12 kg/m²), cortada no verão.
- e) A adubação orgânica e as épocas de corte influenciaram nas proporções relativas de alguns constituintes dos óleos essenciais das folhas (trans-cariofileno e cis-ocimeno) e inflorescências (óxido de cariofileno e α -selineno);
- f) O eugenol (via chiquimato) foi o constituinte majoritário do óleo essencial das folhas (44,20 %), sendo verificada também a presença de compostos da via do acetato (1,8-cineol – 23,73 %, β -selineno – 6,93 %, trans-cariofileno – 5,13 % e cis-ocimeno – 4,25 %);
- g) Estes compostos responderam mais ao efeito das épocas de corte do que à adubação utilizada;

2 – Rebrotos:

- a) As produções dos componentes da parte aérea oriundos do rebroto foram abaixo daqueles do primeiro corte;
- b) A produção de folhas, inflorescências, caules e total do rebroto foi influenciada por algumas épocas de colheitas;
- c) O rendimento de óleo essencial das folhas dos rebrotos não foi influenciado pelas doses de adubo orgânico;
- d) Para as inflorescências ocorreu o contrário;
- e) As épocas de corte influenciaram o rendimento de óleo essencial obtido das folhas e inflorescências;

- f) As produções de óleo essencial para folhas e inflorescências advindas das doses de adubo orgânico e épocas de corte, situaram-se bem abaixo daquelas obtidas no primeiro corte;
- g) As doses de adubo não influenciaram nos percentuais dos constituintes do óleo essencial de folhas e inflorescências do rebroto;
- h) As épocas de corte influenciaram as proporções relativas dos principais constituintes dos óleos essenciais de folhas e inflorescências.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ADAMS, R.P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Carol Stream: Allured Publishing Corporation. 1995. 469p.

ALBUQUERQUE, U. P., ANDRADE, L. H. C. Etnobotánica del Género *Ocimum* L.(*Lamiaceae*) en las comunidades afrobrasileñas. *An. Jard. Bot. Mad.*, v.56, n.1, p.108-17, 1998.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Ciências Agrônomicas. *Normas para elaboração de dissertações e teses*. Botucatu, 1997. 35p.

- ALMEIDA, D. L. *Contribuição da matéria orgânica na fertilidade do solo*. Itaguaí, 1991. 192p. Tese (Doutorado em Agronomia/Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- AMOROZO, M. C. M. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DISTASI, L.C. (Org.) *Plantas medicinais: arte e ciência*. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Ed. da Universidade Estadual Paulista, 1996. p.47-68.
- ARRIGONI-BLANK, M. F., FAQUIN, V., PINTO, J. E. B. P., BLANK, A. F., LAMEIRA, O. A. Adubação química e calagem em erva baleeira. *Hortic. Bras.*, v.17, p.211-5, 1999.
- ATAL, C. K., KAPUR, B. M. (Ed.) *Cultivation and utilization of aromatics plants*. Jammu-Tawi: Regional Research Laboratory, Council of Scientific & Industrial Research, 1982. 4v.
- BALYAN, S. S., SING, A. Effect of different levels and time of pruning in *Ocimum gratissimum* Linn. (var. *Clocimum*). *Rec. Adv. Med., Arom. Spices Crop*, v.2, p.427-30, 1992.
- BALYAN, S. S., SOBTI, S. N. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium on dry matter accumulation and nutrient uptake pattern in *Ocimum gratissimum* Linn. (var. *clocimum*). *Ind. Perfum.*, v.34, p.225-31, 1990.

BHATTACHARYA, P. R., BORDOLOI, D. N. Insect growth activity of some essential oil bearings plants. *Ind. Perfum.*, v.30, p.361-71, 1986.

BHATTACHARYA, P. R., KAUL, P. N., RAO, B. R. R. Essentials oils of *Ocimum gratissimum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L. (syn. *Ocimum sanctum* L.) grown in Andhra Pradesh. *Indian Perfum.*,v.40, p.73-5, 1996.

BLANCO, M. C. S. G. *Preparado biodinâmico, épocas de colheita, temperaturas de secagem, tempo de armazenamento e tipos de embalagem na produção e conservação de alecrim (Rosmarinus officinalis L.).* Botucatu, 2001. 76p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

BROWN JR, K. S. Engenharia ecológica: novas perspectivas de seleção e manejo de plantas medicinais. *Acta Amazônica*, v.18, p.291-303, suplemento, 1988.

BUSTAMANTE, F. M. L. *Plantas medicinales y aromaticas.* Madrid: Mundi Prensa, 1993. p.85-8.

CARVALHO, W. A., ESPÍNDOLA, C. R., PACCOLA, A. A. *Levantamento de solos da Fazenda Lageado: Estação Experimental "Presidente Medici".* Botucatu: Departamento de Ciências do Solo, Departamento de Ciências Ambientais. Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, 1983. p. 8-19.

CERRI, C. Ervas companheiras de viagem. *Rev. Globo Rural*, n.121, p.43-1,1995.

CHALCHAT, J. C., GARRY, R. P., SIDIBÉ, L., HARAMA, M. Aromatic plants of Mali (II):
Chemical composition of essential oils of *Ocimum canum* Sims. *J. Essent. Oil Res.*, v.11,
p.473-6, 1999.

CHALCHAT, J. C., GARRY, R. P., SIDIBÉ, L., HARAMA, M. Aromatic plants of Mali (I):
Chemical composition of essential oils of *Ocimum basilicum* L. *J. Essent. Oil Res.*, v.11,
p.375-80, 1999.

CHARLES, D. J., SIMON, J. E. A new geraniol chemotype of *Ocimum gratissimum* L. *J. Essent. Oil Res.*, v.4, p.231-4, 1992.

CHARLES, D. J., SIMON, J. E., WOOD, K. V. Essential oil constituents of *Ocimum micranthum* Willd. *J. Agric. Food Chem.*, v.38, p.120-2, 1990.

CHARLES, D. J., SIMON, J. E. Changes in essential oil content and composition with leaf development in *Ocimum gratissimum* L. *Acta Hortic.*, Wageningen, n. 344, p.421-7, 1993.

CHOUDHURY, S. M., BORDOLOI, D. N. Effect of sowing on the growth, yield and oil quality of *Ocimum gratissimum* Linn. *Ind. Perfum.*, v.30, p.254-60, 1988.

CHOUDHURY, S. M., HAZARIKA, A. K., BORDOLOI, D. N. Efficacy of foliar application of micronutrients and harvesting time on foliage and oil quality of *Ocimum gratissimum* Linn. *Ind. Perfum.*, v.30, p.465-9, 1986.

CLARK, R. J., MENARY, R. C. Effects of photoperiod on the yield and composition of peppermint oil. *J. Am. Horitc. Soc.*, v.104, p.559-602, 1979.

COLSON, M., TETENY, P., PERRIN, A. Characterization of foliar appendages and essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves. *Herba Hung.*, v.30, p.5-14, 1991.

CORRÊA, M. P. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. IBDF, Rio de Janeiro. 1984. 6v.

CORREA JÚNIOR, C. Influências das adubações orgânica e química na produção de camomila *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert e do seu óleo essencial. In: MING, L. C. (Org.) *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1998. V.2, p.129-64.

CORREA JÚNIOR, C., GRAÇA, C., SCHEFFER, M. C. Produção de plantas medicinais para programas de fitoterapia em rede de saúde pública: a experiência de Curitiba – PR. *Hortic. Bras.*, v.18, p. 48-50, suplemento, 2000.

CORRÊA JÚNIOR, C., MING, L. C., SCHEFFER, M. C. *Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares*. Jaboticabal: FUNEP, 1991. 62p.

- CRAVEIRO, A. A., FERNANDES, A. G., ANDRADE, C. H. S., MATOS, F. J. A., ALENCAR, J. W., MACHADO, M. I. L. *Óleos essenciais de plantas do Nordeste*. Fortaleza: Ed. da Universidade Federal do Ceará, 1981, 210p.
- CRUZ, G. F., INNECCO, R., MATTOS, S. H. Determinação da altura e número de cortes da alfavaca-cravo. *Hortic. Bras.*, v.19, suplemento, 2001. (Editado em CD-ROM).
- CRUZ, G. F., INNECCO, R., MATTOS, S. H. Determinação do número de cortes do alecrim-pimenta. *Hortic. Bras.*, v.19, suplemento, 2001. (Editado em CR-ROM).
- CSIZINSZKY, A. A. Yield response of herbs to nitrogen and potassium in sand in multiple harvests. *J. Herbs, Spices & Med. Plants*, v. 64, p.11-22, 1999.
- CUNHA, A. P.; ROQUE, O. R. Contribuição para o estudo do óleo essencial de alecrim nacional. II – variações quantitativas dos principais constituintes durante a floração da primavera. *Bol. Fac. Farm. Univ. Coimbra*, v.10, p.5-13, 1986.
- CUTTER, E.G. *Anatomia vegetal – células e tecidos*, 2. ed. São Paulo: Roca, 1986. pt. 1, 304p.
- CZEPAK, M. P. Produção de óleo bruto e mentol cristalizável em oito frequências de colheita de menta (*Mentha arvensis* L.). In: MING, L.C. (Org.) *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. p.53-80.

Di STASI, L.C. (Org.) *Plantas medicinais: arte e ciência*. Um guia de estudo interdisciplinar.

São Paulo: Ed. da Universidade Estadual Paulista, 1996. 231p.

DONALISIO, M. G. R., D'ANDREA PINTO, A. J., SOUZA, C. J., GRIDD-PAPP, I.

Experimento sobre época e frequência de colheita do capim-limão (*Cymbopogon citratus* [D.C.] Stapf.). *Ac. Bras. Ciênc.*, v.44, p.117-21, 1971.

DRAGAR, V. A., MENARY, R. C. Mineral nutrition of *Olearia phlogopappa*: effect of growth, essential oil yield and composition. *Soil Sci. Plant Anal.*, v.26, p.1299-313, 1995.

FARNSWORTH, N. R *et al.* O lugar das plantas medicinais na terapêutica. *Bol. Org. Mund.*

Saúde, v.64, p.159-75,1986.

FIGUEIREDO, R. O. *Influência de reguladores vegetais na produção de biomassa, teor de óleo essencial e de citral em Cymbopogon citratus (DC.) Stapf, em diferentes épocas do ano*. Botucatu, 2001. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.

FONT QUER, P. *Plantas medicinales: el dioscórides renovado*. Barcelona: Labor, 1967.

1033p.

FURLAN, M. R. *Efeito da adubação com N-P₂O₅-K₂O sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de Ocimum basilicum L. cultivar Genovese*. Botucatu,

2000. 172p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

GARCIA, I. P., MARQUES, M. C., SILVA, V. T. A. Plantas medicinais: mercado desorganizado mas promissor. *Agriannual 99*. Anuário da agricultura brasileira. Ed. Argos, p.52-6, 1999.

GARCIA, I. P., MARQUES, M. C., SILVA, V. T. A. Plantas medicinais: mercado em expansão. *Agriannual 2000*. Anuário da agricultura brasileira. Ed. Argos, p.67-9, 2000.

GERSHENZON, J. Changes in the level of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. Plenum Press, New York, 1984. 334p.

GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 4. ed. Piracicaba: Nobel, 1970. 430p.

GOTTLIEB, O. R., BORIN, M. R. M. B. Medicinal products: regulation of biosynthesis in space and time. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.95, p.115-20, 2000.

GRAÇA, C. *et al. Fitoterapia em atenção primária*. Curitiba: Secretaria Municipal de Saúde, 1990. 15p.

GUENTER, E. *The essential oil: individual essential oils of the plants family Labiatae*. New York: D. Von Nostrand, 1943. v.3, 777p.

- GULATI, B., SINHA, G K. Studies on some important species of *Ocimum*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ESSENTIAL OILS, 11, 1989, New Delhi. *Proceedings...* New Dehli: Aspect Publishing, 1990. p. 49.
- GUPTA, R. Basil (*Ocimum* spp). Newsletter G-15 Gene Banks for Medicinal & Aromatic Plants, n.5/6, p.1-3, 1994.
- GUPTA, S. C. Variation in herbage yield, oil yield and major component of various *Ocimum* species/varieties (chemotypes) harvested at different stages of maturity. *J. Essent. Oil Res.*, v.8, p.275-9, 1996.
- GUPTA, S. C., TAVA, A. Chemical composition of an improved hybrid strain of *Ocimum canum* Sims. (RRL-OC-11). *J. Essent. Oil Res.*, v..9, p.375-7, 1997.
- HORNOK, L. Influence of nutrition on the yield and content of active compounds in some essential oil plants. *Acta Hortic.*, Wageningen, n.132, p.239-47, 1983.
- HORNOK, L., DOMOKOS, J., HÉTHELYI, É. Effect of harvesting time on the production of *Nepeta cataria* var. *citriodora* Balb. *Acta Hortic.*, Leuven, n.306, p.290-3, 1992.
- INNECCO, R., MATTOS, S. H., CHAVES, F. C. M. Estudos sobre a época de corte e espaçamento da alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.). *Hortic. Bras.*, v. 17, p. 56 , 1998.

KAPUR, K. K., VASHIST, V. N., ATAL, C. K. Variability and utilization studies on *Eucalyptus citriodora* Hook. grown in India. In: ATAL, C. K., KAPUR, B. M. (Ed.) *Cultivation and utilization of aromatic plants*. Jammu-Tawi: Regional Laboratory Council of Scientific and Industrial Research, 1982. v.3, 606p.

KIEHL, E.J. *Manual de edaflogia: relações solo-planta*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1979. 264p.

KOSHIMA, F., MING, L.C. MARQUES, M.O.M. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e de citral em capim-limão, *Cymbopogon citratus* (DC.) STAPF., com cobertura morta nas estações do ano. In: XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, *Resumos*, (Editado em CD-ROM).

LAMMERINCK., J., WALLACE, A. R., PORTER, N. G. Effects of harvest time and postharvest drying on oil from lavadin (*Lavandula x intermedia*). *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.*, v.17, p.315-26, 1989.

LARCHER, J. Importance de la date de récolte sur la teneur en vanilline des gousses de *Vanilla tahitensis* J.W. Moore en Polynésie Française. *Agron. Trop.*, v.44, p.143-6, 1989.

LEWINGTON, A. *Species in danger: a review of the importation of medicinal plants and plant extracts into Europe*. Cambridge: Traffic International, WWF UK, 1993. 37p.

LOPES, A. S. *Manual de fertilidade do solo*. São Paulo: ANDA/POTAFOS, 1989. 153p.

LOPES, N.P., KATO, M. J., ANDRADE, E. H. A., MAIA, J. G. S., YOSHIDA, M. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Viola surinamensis* leaves. *Phytochemistry*, v.46, p.689-93, 1997.

MACHADO, M. I. L., SILVA, M. G. V., MATOS, F. J. A., CRAVEIRO, A. A., ALENCAR, J. W. Volatile constituents from leaves and inflorescence oil of *Ocimum tenuiflorum* L. f. (syn. *O. sanctum* L.) grown in Northeastern Brazil. *J. Essent. Oil Res.*, v.11, p.324-6, 1999.

MAHDI, M. Z., ABOU DAHAB, A. M., EL-KHATEEB, M. A. Effect of N fertilization on growth and essential oil of *Eucalyptus torquata* and *E. angulosa*. *Acta Hort.*, Wageningen, n.208, p.73-81, 1987.

MAIA, N. B., BOVI, O. A., MARQUES, M. O. M., GRANJA, N. P., CARMELLO, Q. A. C., MALOUPA, E., GERASOPOULOS, D. Essential oil production and quality of *Mentha arvensis* L. grown in nutrient solutions. *Acta Hort.*, Leuven, n.548, p.181-7, 2001.

MAIA, N. B., BOVI, O. A., PERECIN, M. B., GRANJA, N. P. Crescimento e qualidade do óleo essencial de alfavaca-cravo em hidroponia. *Hortic. Bras.*, v.19, suplemento, 2001. (Editado em CD-ROM).

MALAVOLTA, E., VITTI, G. C., OLIVEIRA, S. A. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2. ed. rev. e atual. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MALDUEÑO BOX, M. *Cultivo de plantas medicinales*. 2. ed. Madrid: Publicaciones de Extension, 1973. 490p.

MANN, J. *Chemical aspects of byosynthesis*. Oxford: Oxford University Press, 1994. 392p.

MARTINS, E. R. *Morfologia interna e externa, caracterização e óleo essencial de Ocimum selloi Benth.* Viçosa, 1996. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.

MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELLANI, D. C. *Plantas medicinais*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 220p.

MATOS, F. J. A. *Farmácias vivas*. 3. ed. ver. atual. Fortaleza: Ed. Universidade Federal do Ceará, 1998. 220p.

MATOS, F. J. A. *Plantas medicinais brasileiras - um desafio para nossos químicos orgânicos*. *Desafio*, v.3, p.9, 1990.

MATTOS, J.K.A. *Plantas medicinais: aspectos agrônômicos*. Brasília: Ed. do Autor, 1996. 52p.

McLAFFERTY, F. W., STAUFFER, D. B. *The Willey/NBS Registry of Mass Spectral Data.*

New York: John Willey, 1989. v.1-6.

METCALFE, C. R., CHALK, L. *Anatomy of the dicotyledones.* 2. ed. Oxford: Clarendon

Press, 1985. 297p.

MING, L. C. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na Agronomia. *Hortic. Bras.*, v.12, p.3-

9, 1994.

MING, L. C. *Influência de diferentes níveis de adubção orgânica na produção de biomassa e*

teor de óleos essenciais de Lippia alba (Mill.) N.E. Br. Verbenaceae. Curitiba, 1992.

206p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná.

MING, L. C. *Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função de fases de*

desenvolvimento, calagem e adubação mineral e orgânica em Ageratum conyzoides L.

Jaboticabal: 1996, 97p. Tese (Doutorado Agronomia – Produção Vegetal) - Faculdade de

Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

MING, L. C., CHAVES, F. C. M., MARQUES, M. O. M., MEIRELES, M. A. A. Produção

sazonal de óleo essencial em uma população natural de *Piper aduncum* L. em

Adrianópolis – PR. *Hortic. Bras.*, v.20, suplemento, 2002. (Editado em CD-ROM).

MORAES, L. A. S., FACANALI, R., MARQUES, M. O. M., MING, L.C., MEIRELES, M.

A. A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, v.74, p.183-6, 2002.

NDOUNGA, M., OUAMBA., J. M. Antibacterial and antifungal activities of essential oils of

Ocimum gratissimum and *O. basilicum* from Congo. *Fitoterapia.*, v.68, p.190-1, 1997.

NÉMETH, É., BERNÁTH, J., HÉTHELYI, É. Diversity in chemotype reaction affected by

ontogenetical and ecological factors. *Acta Hortic.*, Leuven, n. 344, p.178-87, 1993.

NEVES, E. S. Plantas medicinais na Saúde Pública. *Silvic. São Paulo*, v.16 A, p.181-6, 1982.

NOLASCO, F. *Deficiências nutricionais em manjeriço (Ocimum spp.), sob hidroponia.*

Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996. 19p. (Monografia).

NTEZURUBANZA, L., SCHEFFER, J. J. C., SVENDSEN, A. B., BAERHEIM-SVENDSEN,

A. Composition of the essential oil of *Ocimum gratissimum* grown in Ruanda. *Planta Med.*, v.53, p.421-3, 1987.

OLIVEIRA, A. B., SHAAT, V. T., OLIVEIRA, G. G. Síntese de derivados do eugenol com

ação biológica. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 5, 1978, São Paulo. *Anais...* São Paulo: SBPC, 1978. v.32, p.130-4, 1978.

- ÖZGÜVEN, M.; STAHL-BISKUP, E. Ecological and ontogenetical variation in essential oil of *Origanum vulgare*. *Planta Med.*, v. 55, p.693-4, 1989.
- PAL, S. Effect of different plant growth stages on herb yield, oil content and thymol in *Ocimum viride* Willd. *Madras Agric. J.*, v.77, p.329-31, 1990.
- PATON, A., HARLEY, R. M., HARLEY, M. M. Ocimum: a overview of classification and relationships. In: Holm, Y., hiltunen, R. (ed.) *Ocimum: medicinal and aromatics plants – industrial profiles*. Series. Amsterdam: Ed. Hardman, 1999. p.1-38.
- PICCAGLIA, R., MAROTTI, M., DELLACECCA, V. Effect of planting density and harvest date on yield and chemical composition of sage oil. *J. Essent. Oil Res.*, v.9, p.187-1, 1997.
- PILLAI, R. R., CHINNAMMA, N. P. Effect of harvest dates om yield and quality of oil in clocimum (*Ocimum gratissimum* Linn.). *Ind. J. Plant Physiol.*, v.38, p.83-4, 1995.
- PINO, J. A., ROSADO, A., FUENTES, V. Composition of the essential oil from the leaves and flowers of *Ocimum gratissimum* L. grown in Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, v.8, p.139-1, 1996.
- PINO, J. A., ROSADO, A., RODRIGUEZ, M., GARCIA, D. Composition of the essential oil of *Ocimum tenuiflorum* L. grown in Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, v.10, p.437-8, 1998.

PRASAD, A., RAM, M., GUPTA, N., KUMAR, S. Effect of different soil characteristics on the essential oil yield of *Artemisia annua*. *J. Med. Arom. Plant Sci.*, v.20, p.703-5, 1998.

PRASZNA, L., BERNATH, J., PALEVITCH, D., PUTIEVSKY, E. Correlations between the limited level of nutrition and the essential oil production of peppermint. *Acta Hortic.*, Leuven, n.344, p.278-289, 1993.

PRIMAVESI, A. *O manejo ecológico do solo*. São Paulo: Nobel, 1980. 54p.

PRIMAVESI, O. *Fatores limitantes da produtividade agrícola e plantio direto*. São Paulo: BASF, 1982. 56p.

PUTIEVSKY, E., RAVID, U., DUDAI, N. Phenological and seasonal influences on essential oil of a cultivated clone of *Origanum vulgare* L. *J. Sci. Food Agric.*, v.43, p.225-8, 1988.

RAIJ, B. V., SILVA, N. M., BATAGLIA, O. C., QUAGGIO, J. A., HIROCE, R., CANTARELLA, H., BELLINAZZI JR., R., DECHEN, A. R., TRANI, P. E. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. *Bol. Téc. Inst. Agron. Campinas*, n.100, p.1-107, 1985.

RAM, M., PRASAD, A., GUPTA, N., KUMAR, S. Effect of soil pH on the essential oil yield in the geranium *Pelargonium graveolens*. *J. Med. Arom. Plant Sci.*, v.19, p.406-7, 1997.

SACRAMENTO, H. T. A fitoterapia no serviço público. *Hortic. Bras.*, v.18, suplemento, p.50-1, 2000.

SANDA, K., KOKA, K., AKPAGANA, K., TCHÉPANT, T. Content and chemical composition of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. at different harvesting dates after planting. *Riv. Ital. EPPOS*, n.31, p.3-7, 2001.

SCHEFFER, M. C. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. – mil-folhas. In: MING, L. C. (Org.) *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1998. v.2, p.1-22.

SILVA, F. G., PINTO, J. E. B. P., CARDOSO, M. G., SALES, J. F., MOL, D. J. S., DIVINO, S. P., GONÇALVES, L. D., SHAN, A. Y. K. V., BERTOLUCCI, S. K. Crescimento e rendimento de óleo essencial de carqueja amarga, em casa de vegetação, com adubação orgânica e química. *Hortic. Bras.*, v.19, suplemento, 2001. (Editado em CD-ROM).

SILVA, M. G. V., CRAVEIRO, A. A., MACHADO, M. I. L., ALENCAR, J. W., MATOS, F. J. A., AURÉLIO, F. K. F. Essential oils from leaves and inflorescences of *Ocimum micranthum* Willd. From Northeastern Brazil. *J. Essent. Oil Res.*, v.10, p.77-8, 1998.

SILVA, M. G. V., MACHADO, M. I. L., CRAVEIRO, A. A., ALENCAR, J. W., MATOS, F. J. A., MAGALHAES, M. C. Essential oils from leaves and inflorescence of *Ocimum*

basilicum var. *purpurascens* Benth. from Northeastern Brazil. *J. Essent. Oil Res.*, v. 10, p.558-60, 1998.

SILVA, P. A., BLANK, A. F., ARRIGONI-BLANK, M. F., ALVES, P. B., SANTOS NETO, A. L., CARVALHO FILHO, J. L. S., AMANCIO, V. F. Efeito da adubação mineral e orgânica e do horário de colheita em manjeriço-doce. *Hortic. Bras.*, v.19, suplemento, 2001. (Editado em CD-ROM).

SIMON, J. E., MORALES, M. R., PHIPPEN, W. B., VIEIRA, R. F., HAO, Z. Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In: JANICK, J. *New crops and new uses: biodiversity and agricultural sustainability*. Alexandria: ASHS Press, 1999. p.12-159.

SOBTI, S. N., PUSHANGADAN, P. Studies in the Genus *Ocimum*: cytogenetics, breeding and production of new strains of economic importance. In: ATAL, C. K., KAPUR, B. M. (Ed.) *Cultivation and utilization of aromatic plants*. Jammu-Tawi: Regional Laboratory Council of Scientific and Industrial Research, 1982. v.3, 606p.

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. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, v.36, p.405-9, 2001.

THE MERCK INDEX: *an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. 11. ed. New Jersey: Merck, 1989. p.612.

- TRAPP, S. C., CROTEAU, R. D. Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. *Genet.*, v.158, p.811-32.
- UMESHA, K., BOJAPRA, K. M., FAROOQI, A. A., SURESH, N. S. Influence of plant density on growth and yield of clove (*Ocimum gratissimum* L.). *Indian Perfum.*, v.34, p.173-5, 1990.
- VIEIRA, M. C.; HEREDIA Z., N. A., SANCHEZ, M. A. Produção de camomila cv. Mandirituba em função do uso de nitrogênio e de cama-de-aviário. *Hortic. Bras.*, v.19, suplemento, 2001. (Editado em CD-ROM).
- VIEIRA, M.C., HEREDIA Z., N. A., BRATTI, C., BASSO, K. C., FORTES, C. G., CASTEL, D. D. Adubação nitrogenada e fosfatada na camomila 'Mandirituba'. *Hortic. Bras.*, v.19, suplemento, 2001. (Editado em CD-ROM).
- VIEIRA, R. F. Espécies medicinais prioritárias para conservação – levantamento preliminar. *Comum. Téc. CENARGEN (Cent. Nac. Pesqui. Rec. Gen. Biotecnol.)*, n.14, p.1-10, 1993.
- VIEIRA, R. F., GRAYER, R. J., PATON, A., SIMON, J. E. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. *Biochem. Systemat. Ecol.*, v.29, p.287-304, 2001.
- VIEIRA, R. F., SIMON, J. E. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. *Econ. Bot.*, v.54, p.207-16, 2000.

VOSTROWSKY ,O., GARBE, W., BESTMANN, H. J., MAIA, J. G. S. Essential oil of alfavaca, *Ocimum gratissimum*, from brazilian amazon. *Z. Naturforsch. Sect. C. Biosci.*, v.45, p.9-10, 1990.

WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R. K. M., WATERMAN, P. G. *Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production*. Essex: Longman Group, 1993. p.47-61.

WHITE, J. G. H., ISKANDAR, S. H., BARNES, M. F. Peppermint: effect of time on harvest on yield and quality of oil. *N. Z. J. Exp. Agric.*, v.15, p.73-9, 1987.

YAYI, E., MOUDACHIROU, M., CHALCHAT, J. C. Essential oil of *Ocimum gratissimum* form Benin. *J. Essent. Oil Res.*, v.11, p.529-31, 1999.

APÊNDICE

Apêndice 1. Outros constituintes encontrados no óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2001-02.

SUBSTÂNCIA	% - médias
α -pineno	0,44
β -pineno	1,89
germacreno-D	2,45
α -terpineol	0,64
sabineno	0,46
mirceno	0,62
limoneno	0,40
linalol	2,05
α -copaeno	0,28
β -bourboneno	0,17
β -elemeno	0,33
β -cubebeno	0,19
α -humuleno	0,92
germacreno-A	0,28
epi- α -selineno	0,57

delta-codineno	0,21
----------------	------

Apêndice 2. Outros constituintes encontrados no óleo essencial de inflorescências de alfavaca-cravo em função da adubação orgânica e épocas de corte. UNESP/Botucatu – SP, 2001-02.

SUBSTÂNCIA	% - médias
α -pineno	0,73
sabineno	0,75
β -pineno	2,86
mirceno	0,50
cis-hidrato de sabineno	0,21
linalol	2,27
α -terpineol	0,60
α -copaeno	1,48
β -bourboneno	0,86
β -elemeno	0,37
β -cubebeno	0,57
β -gurjeneno	0,18
α -t-bergamoteno	0,49
α -humuleno	1,87

seycheleno	0,81
germacreno-D	1,57
germacreno-A	0,27
epi- α -selineno	1,43
aceto-codineno	0,27
spotuelenol	0,46
humuleno epoxide II	0,71
