



ELZA DE OLIVEIRA FERRAZ

**BIOMASSA E PRODUÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE *Achillea millefolium* L. COM
ADUBAÇÃO ORGÂNICA E SOB RADIAÇÕES
U.V.**

**LAVRAS – MG
2011**

ELZA DE OLIVEIRA FERRAZ

**BIOMASSA E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Achillea
millefolium* L. SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E RADIAÇÕES U.V.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dr^a. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

LAVRAS – MG

2011

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Ferraz, Elza de Oliveira.

Biomassa e produção de óleo essencial de *Achillea millefolium L.*
com adubação orgânica e sob radiações UV / Elza de Oliveira
Ferraz. – Lavras : UFLA, 2011.

105 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Suzan Kelly Vilela Bertolucci.

Bibliografia.

1. Planta medicinal. 2. Fertilização orgânica. 3. Ambiente de
cultivo. 4. Malhas coloridas. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 633.88355

ELZA DE OLIVEIRA FERRAZ

**BIOMASSA E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Achillea
millefolium* L. SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E RADIAÇÕES U.V.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de julho de 2011.

| | |
|---|---------|
| Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto | UFLA |
| Dr. Osmar Alves Limeira | EMBRAPA |
| Dr ^a . Ana Luíza de Oliveira Timbó | UFLA |

Dr^a. Suzan Kelly Vilela Bertolucci
Orientadora

LAVRAS – MG

2011

À minha família

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e tudo que tem proporcionado para ao meu crescimento como ser humano.

Quaisquer palavras seriam poucas para agradecer àqueles que sempre me ofereceram tudo, em todos os sentidos, a minha família pelo amor, apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao Helbert pela atenção, carinho e companherismo que me ajudaram e incentivaram a sempre fazer o melhor.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Setor de Fitotecnia, pela oportunidade de realização da Pós-graduação.

Ao CNPq, Fapemig e Capes pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro nos experimentos.

À minha orientadora e amiga a professora Suzan Kelly Vilela Bertolucci pela orientação, dedicação e apoio irrestrito e por sempre acreditar que as coisas dariam certo.

Ao professor José Eduardo Brasil Pereira Pinto pelo grande auxílio no desenvolvimento deste trabalho e por ter um coração de ouro.

Aos companheiros de laboratório Carol, Ivan, Helena, Lucila, Andreísa, Ana Luíza, Andressa, Jorge, Evaldo, Luizinho, Dico e Paulinho pela amizade, em especial à Aurislaine pela ajuda nos experimentos e experiências compartilhadas.

Aos professores do Departamento de Agricultura/UFLA pelos conhecimentos transmitidos e pelo crescimento pessoal e profissional.

À professora Mara Rejane do Instituto de Biociências da UFRGS pela identificação botânica da espécie.

Às minhas amigas e irmãs de coração Bibian, Clarissa e Marcela pela sinceridade, atenção e carinho. E a todos que acreditaram e me ajudaram a finalizar mais essa etapa em minha vida, muito obrigada!

RESUMO GERAL

A espécie *Achillea millefolium* L. é considerada uma planta medicinal importante com propriedades antiinflamatória, antipirética e cicatrizante. O trabalho teve como objetivos avaliar o cultivo orgânico e a influência da qualidade e intensidade espectral sobre o crescimento e produção de óleo essencial em *A. millefolium* e consistiu-se de dois experimentos distintos realizados na UFLA. O primeiro visou avaliar o efeito de doses de adubo orgânico (esterco bovino e avícola) no crescimento, teor, rendimento e composição química do óleo essencial de *A. millefolium*. As plantas foram submetidas às seguintes doses de esterco bovino: 0, 3; 6; 9 e 12 kg m⁻² e esterco avícola: 0; 1,5; 3; 4,5 e 6 kg m⁻². O delineamento utilizado foi o DIC, com quatro repetições e quatro plantas por repetição. Aos 110 dias após o plantio realizou-se as análises de crescimento e a extração do óleo essencial. Concluiu-se que a adubação orgânica interferiu positivamente nos parâmetros analisados, sendo que o esterco avícola inferiu maiores quantidades de biomassa seca (36g planta⁻¹) e, conseqüentemente, maior rendimento de óleo essencial (31mg planta⁻¹). A composição química do óleo não apresentou diferenças entre os tratamentos. No segundo analisou-se a influência no crescimento, pigmentos fotossintetizantes, carboidratos e na produção e composição química de óleo essencial de *A. millefolium* sob cultivo de Cromatinets coloridos e pleno sol. As plantas foram condicionadas às seguintes malhas: preta, azul, vermelha, Aluminet à 50% de sombreamento e pleno sol. O delineamento utilizado foi o DIC, com quatro repetições e quatro plantas por repetição. Foram feitas duas colheitas, uma aos 120 dias e outra aos 180 dias após o plantio das mudas. Concluiu-se que a espécie *A. millefolium* é sensível à qualidade e intensidade luminosa para o acúmulo de biomassa, teor e rendimento de óleo essencial, sendo que plantas submetidas a pleno sol tiveram maior acúmulo de biomassa e teor de óleo essencial.

Palavras-chave: Planta medicinal. Fertilização orgânica. Ambiente de cultivo e Malhas coloridas.

ABSTRACT

The species *Achillea millefolium* L. is considered an important medicinal plant with anti-inflammatory, antipyretic and healing properties. The study aimed to evaluate the influence of organic farming and the spectral quality and intensity on growth and essential oil production in the *Achillea millefolium* and consisted in two separate experiments performed at UFLA. The first objective was to evaluate the effect of doses of organic fertilizer (cattle and chicken manure) on growth and essential oil *A. millefolium* content, yield and chemical composition. The plants were subjected to the following manure levels: 0, 3, 6, 9 and 12 kg m⁻² and chicken manure: 0, 1.5, 3, 4.5 and 6 kg m⁻². The experimental design was randomized with four replications and four plants per replicate. The analysis of growth and essential oil extraction was done 110 days after planting. It was concluded that the organic fertilization affected positively these parameters, and chicken manure inferred large amounts of dry biomass (36g plant⁻¹) and consequently higher yield of essential oil (31mg plant⁻¹). The oil chemical composition did not differ between treatments. In the second was analyzed the influence on growth, photosynthetic pigments, carbohydrates and the production and chemical composition of essential oil of *A. millefolium* growing in color nets and full sunlight. The plants were conditioned to the following nets: black, blue, red, Aluminet to 50% of shade and full sunlight. The experimental design was randomized with four replications and four plants per replicate. Two harvests were made, one 120 days and another 180 days after planting the seedlings. It was concluded that the species *A. millefolium* is sensitive to the quality and intensity to the accumulation of biomass, content and essential oil yield, whereas plants exposed to full sunlight had a greater accumulation of biomass and essential oil content.

Keywords: Medicinal plants. Organic fertilizer. Growing environment and Colored mesh.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

- Figura 1 Planta (A), flores (B) e detalhe morfológico da folha de *Achillea millefolium* L (C). Espécie pertencente ao Horto de Medicinal do DAG/UFLA. UFLA, Lavras, 2011..... 17
- ARTIGO 2
- Figura 1 Plantas de *Achillea millefolium* L. cultivadas sob diferentes doses de adubação orgânica. A - esterco avícola (0 kg m⁻²; 1,5 kg m⁻²; 3 kg m⁻²; 4,5 kg m⁻² e 6 kg m⁻²). B - esterco bovino (0 kg m⁻²; 3 kg m⁻²; 6 kg m⁻²; 9 kg m⁻² e 12 kg m⁻²). UFLA, Lavras, 2011..... 86
- Figura 2 Estruturas químicas dos constituintes majoritários identificados no óleo essencial de *Achillea millefolium* L. submetidas à diferentes doses de adubação de esterco avícola e bovino. UFLA, Lavras, 2011. Fonte: NIST (2008)..... 93

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO 1

- Gráfico 1 Porcentagem de área relativa do pico referente ao camazuleno no óleo essencial de *Achillea millefolium* L. na primeira e segunda colheita, UFLA, Lavras, 2011..... 67

ARTIGO 2

- Gráfico 1 Produção de biomassa seca (g) da parte aérea (BPA) e raiz (BSR) de plantas e *Achillea millefolium* L. submetidas a diferentes doses de esterco avícola (A) e bovino (B). UFLA, Lavras, 2011. Significativo ao nível de 5% pelo teste F..... 87
- Gráfico 2 Relação Raiz/Parte aérea (R/PA) de plantas de *Achillea millefolium* L. em função de doses de esterco avícola (A) e bovino (B). UFLA, Lavras, 2011. Significativo ao nível de 5% pelo teste F..... 90
- Gráfico 3 Rendimento de óleo essencial (mg planta⁻¹) de plantas de *Achillea millefolium* L. submetidas à diferentes doses de adubação de esterco avícola (A) e bovino (B). UFLA, Lavras, 2011. Significativo ao nível de 5% pelo teste F..... 92
- Gráfico 4 Constituintes majoritários do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. submetidos à adubação com esterco avícola em diferentes dosagens, UFLA, Lavras, 2011 98
- Gráfico 5 Porcentagem relativa de área dos constituintes majoritários do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. submetidos à adubação com esterco avícola em diferentes dosagens, UFLA, Lavras, 2011..... 99

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabela 1 | Análise química do solo utilizado no experimento com plantas de <i>Achillea millefolium</i> L., UFLA, Lavras, 2011..... | 44 |
| Tabela 2 | Análise química do esterco bovino utilizado no experimento com plantas de <i>Achillea millefolium</i> L., UFLA, Lavras, 2011.... | 44 |
| Tabela 3 | Médias de temperatura (°C), precipitação (mm), umidade (%) e insolação (h dia ⁻¹) durante os meses de abril à outubro de 2010. UFLA, Lavras, 2011..... | 46 |
| Tabela 4 | Produção de biomassa seca de plantas de <i>Achillea millefolium</i> L. cultivadas sob diferentes malhas, durante a primeira e a segunda colheita. BPA: biomassa seca da parte aérea, BSR: biomassa seca de raízes, R/PA: relação raiz/parte aérea. UFLA, Lavras, 2011..... | 53 |
| Tabela 5 | Teores de pigmentos fotossintetizantes em folhas de <i>Achillea millefolium</i> L. cultivadas sob diferentes malhas. UFLA, Lavras, 2011..... | 55 |
| Tabela 6 | Teor de açúcar solúvel total (AST) e amido na folha e raiz de plantas de <i>A. millefolium</i> submetidas a malhas coloridas e pleno sol. UFLA, Lavras, 2011..... | 58 |
| Tabela 7 | Teor e rendimento de óleo essencial de <i>A. millefolium</i> cultivadas sob diferentes malhas, na primeira e segunda colheitas. BSF: biomassa das folhas. UFLA, Lavras, 2011..... | 60 |
| Tabela 8 | Análise química do óleo essencial da primeira colheita de plantas de <i>A. millefolium</i> cultivadas sob malhas coloridas, UFLA, 2011..... | 64 |
| Tabela 9 | Constituintes majoritários do óleo essencial de plantas de <i>Achillea millefolium</i> L. na primeira colheita, UFLA, Lavras, 2011..... | 66 |
| Tabela 10 | Constituintes majoritários do óleo essencial de plantas de <i>Achillea millefolium</i> L. na segunda colheita, UFLA, Lavras, 2011..... | 66 |

ARTIGO 2

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Análise química do solo utilizado no experimento com plantas de <i>Achillea millefolium</i> L., UFLA, Lavras, 2011..... | 81 |
| Tabela 2 | Análise química do esterco bovino utilizado no experimento com plantas de <i>Achillea millefolium</i> L., UFLA, Lavras, 2011.... | 81 |

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 3 | Composição química e porcentagem relativa da área da pico dos componentes do óleo essencial de folhas de <i>Achillea millefolium</i> cultivadas com diferentes doses de esterco avícola. UFLA, Lavras, 2011..... | 94 |
| Tabela 4 | Composição química e porcentagem relativa da área do pico dos componentes do óleo essencial de folhas de <i>Achillea millefolium</i> cultivadas com diferentes doses de esterco bovino. UFLA, Lavras, 2011..... | 95 |

SUMÁRIO

| | |
|--|--|
| PRIMEIRA PARTE | |
| 1 | INTRODUÇÃO GERAL..... 15 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO..... 16 |
| 2.1 | Aspectos botânicos da espécie em estudo..... 16 |
| 2.2 | Atividades biológicas e usos populares de <i>Achillea millefolium</i> L. 18 |
| 2.3 | Composição química volátil de <i>Achillea millefolium</i> L..... 20 |
| 2.4 | Produção de plantas medicinais em cultivos protegidos de luz..... 22 |
| 2.5 | Efeito da adubação orgânica em plantas medicinais..... 25 |
| | REFERÊNCIAS..... 29 |
| SEGUNDA PARTE - ARTIGOS | |
| ARTIGO 1 BIOMASSA E ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Achillea millefolium</i> L. EM CULTIVO PROTEGIDO SOB DIFERENTES RADIAÇÕES UV..... 38 | |
| 1 | INTRODUÇÃO..... 41 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS..... 43 |
| 2.1 | Identificação botânica da espécie..... 43 |
| 2.2 | Caracterização do local..... 43 |
| 2.3 | Preparo das mudas e transplantio..... 43 |
| 2.4 | Condução do experimento..... 45 |
| 2.5 | Análise de biomassa..... 45 |
| 2.6 | Quantificação de pigmentos fotossintetizantes..... 46 |
| 2.7 | Quantificação de carboidratos..... 47 |
| 2.8 | Extração e análises do óleo essencial..... 48 |
| 2.9 | Análise estatística..... 50 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... 52 |
| 3.1 | Biomassa seca..... 52 |
| 3.2 | Teores de pigmentos fotossintetizantes..... 55 |
| 3.3 | Teores de carboidratos..... 58 |
| 3.4 | Teor, rendimento e composição química do óleo essencial..... 59 |
| 4 | CONCLUSÕES..... 68 |
| | REFERÊNCIAS..... 69 |
| ARTIGO 2 ADUBAÇÃO ORGÂNICA NO CRESCIMENTO, TEOR, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Achillea millefolium</i> L..... 74 | |
| 1 | INTRODUÇÃO..... 77 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS..... 80 |
| 2.1 | Identificação botânica da espécie..... 80 |
| 2.2 | Caracterização do local..... 80 |
| 2.3 | Preparo das mudas e transplantio..... 80 |

| | | |
|------------|---|------------|
| 2.4 | Condução do experimento..... | 81 |
| 2.5 | Análise de biomassa..... | 82 |
| 2.6 | Extração e análises do óleo essencial..... | 82 |
| 2.7 | Análise estatística..... | 84 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 85 |
| 3.1 | Biomassa seca..... | 85 |
| 3.2 | Relação Raiz/ Parte aérea (R/PA) | 89 |
| 3.3 | Teor, rendimento e composição química do óleo essencial..... | 90 |
| 4 | CONCLUSÕES..... | 102 |
| | REFERÊNCIAS..... | 103 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

A RENISUS é uma lista de plantas medicinais de interesse a atenção básica nas unidades de saúde do SUS. A lista é constituída de espécies vegetais com potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao SUS. São espécies amplamente utilizadas pela população brasileira, e que já têm evidências de indicações de uso, no entanto, necessitam ainda de estudos para determinar condições de cultivo e produção agrícola, segurança, eficácia e definições da forma farmacêutica mais adequada (BRASIL, 2009).

A *Achillea millefolium* L., popularmente conhecida como mil folhas, é uma das espécies que constam na RENISUS. É especialmente utilizada pela sua ação analgésica e anti-inflamatória e os conhecimentos sobre os aspectos agrônômicos ainda são incipientes.

Sabe-se que diversos fatores influem na biossíntese de princípios ativos e condicionam o aproveitamento medicinal e aromático das plantas. Como o ambiente influencia diretamente a expressão dos genes, que por sua vez comandam o metabolismo secundário, a produção dos princípios ativos e biomassa podem ser reguladas ou não, de acordo com as condições climáticas, edáficas e nutricionais influenciando sobremaneira a produção de plantas medicinais (MONTANARI JÚNIOR; PEREIRA; MAGALHÃES, 1998). Neste sentido, o manejo fitotécnico como adubação (orgânica e/ou mineral), luz (intensidade e qualidade), entre outros fatores podem alterar significativamente o crescimento de plantas maximizando a produção de biomassa e de óleo essencial.

Portanto, a fim de contribuir com informações sobre o manejo agrícola da espécie, objetivou-se avaliar o cultivo orgânico e a influência da qualidade espectral da luz sobre o crescimento e produção de óleo essencial em folhas de *A. millefolium* L.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos botânicos da espécie em estudo

O gênero *Achillea* é representado por cerca de 85 espécies encontradas principalmente na Europa e Ásia e algumas na América do Norte (CANDAN et al., 2003).

Achillea millefolium L. representa um complexo polimórfico, dividido em subespécies com formas diplóide ($2n=2x=18$) a octaplóide ($2n=2x=72$) e que diferem na morfologia e composição química (BENEDEK; KOPP; MELZIG, 2007). Segundo Cronquist (1981) a espécie possui o seguinte enquadramento taxonômico: Divisão – Magnoliophyta, Classe – Magnoliopsida, Subclasse – Asteridae, Ordem – Asterales, Família – Asteraceae, Subfamília – Asteroideae, Tribo– Anthemideae, Gênero – *Achillea* e Espécie – *Achillea millefolium* L.

Achillea millefolium L. (Figura, 1) é uma planta medicinal, rizomatosa, perene, herbácea que atinge cerca de 30 a 50 cm de altura, comumente encontrada na Grã-Bretanha, sul da Europa, Ásia, Austrália e América do Norte (AFSHARYPUOR; ASGARY; LOCKWOOD, 1996; BAGGIO et al., 2002). Foi introduzida no Brasil e adaptou-se bem ao clima brasileiro, sendo exigente em luz, fertilidade e aeração de solo (LORENZI; MATOS, 2002).

Popularmente é conhecida como mil-folhas, milefólio, aquiléia, erva-carpinteiro, mil-em-ramas e novalgina. Em outros idiomas, *schafgarbe* (alemão), *milenrama* (espanhol), *yarrow* (inglês), *millefeuille* (francês) e *millefoglie* (italiano) (BALBACH, 1995). O nome do gênero *Achillea*, deriva provavelmente do herói grego Achilles, que utilizava a planta para tratar as feridas de seus soldados. O nome da espécie, *millefolium*, refere-se ao tipo das

folhas, as quais são muito recortadas, o que faz a planta aparentar ter mil folhas (LIMA et al., 2011; LORENZI; MATOS, 2002).



Figura 1 Planta (A), flores (B) e detalhe morfológico da folha de *Achillea millefolium* L (C). Espécie pertencente ao Horto Medicinal do DAG/UFLA. UFLA, Lavras, 2011

É uma erva perene, cujas folhas são alternas, simples e profundamente fendidas. Assemelham-se a uma folha composta, apresentando bainha achatada, pecíolo listrado e piloso nas laterais. As inflorescências são do tipo corimbo, formada de pequenos capítulos florais dispostos em grupos aplainados. As flores estão reunidas em capítulos dimorfos cujas flores do raio são liguladas, brancas ou levemente rosadas, unissexuadas femininas (pistiladas) e as do centro tubulosas, hermafroditas, brancas, com estigma bifurcado e papiloso na sua extremidade. Os frutos pequenos, secos e duros (aquênio) têm sabor amargo e apenas uma semente (CASTRO; CHEMALE, 1995; LORENZI; MATOS, 2002).

A planta geralmente multiplica-se assexuadamente, pois a formação de frutos e sementes é rara. A propagação ocorre por estacas ou por divisão de touceiras. Este tipo de multiplicação vegetativa garante um desenvolvimento mais homogêneo e uniforme, pois elimina problemas com cruzamentos indesejáveis (LORENZI; MATOS, 2002). No Horto Medicinal da UFLA essa espécie floresce uma vez por ano, entre novembro e dezembro.

2.2 Atividades biológicas e usos populares de *Achillea millefolium* L.

Na medicina tradicional *A. millefolium* é usada na forma de infusão e tinturas contra distúrbios gastrointestinais e hepatobiliares devido às suas propriedades antiflogística, espasmolítica e antimicrobiana (BENEDEK et al., 2006). Flavonóides são descritos como os constituintes responsáveis pela atividade antiespasmódica (BENEDEK et al., 2006; LEMMENS-GRUBER et al., 2006) e o óleo essencial e sesquiterpenos exibem efeitos antimicrobianos (SIMIC et al., 2002). Outros usos populares são para tratar dores de cabeça e de dente, febre, gastrite e úlceras (BAGGIO et al., 2002).

As atividades antiespasmódica e hepatoprotetora (YAEESH et al., 2006), anti-inflamatória (BENEDEK; KOPP; MELZIG, 2007; SOSA et al., 2001), antiespermatogênica (MONTANARI; CARVALHO; DOLDER, 1998), antiúlcera (CAVALCANTI et al., 2006; POTRICH, 2010), antinociceptiva (PIRES et al., 2009), hipotensora (KHAN; GILANI, 2011; SOUZA et al., 2011), repelente de mosquitos (TUNON; THORSELL; BOHLIN, 1994) e contra leishmaniose cutânea em ratos (NILFOROUSHZADEH et al., 2008) já foram demonstradas em ensaios farmacológicos *in vitro* e *in vivo* com a espécie.

O extrato metanólico 70% de *A. millefolium* apresentou atividade hepatoprotetora contra hepatite induzida em camundongos Balb-C de ambos os sexos, bem como efeito antiespasmódico mediado por bloqueio de canais de

cálcio, corroborando com os usos tradicionais como agente hepatoprotetor e antiespasmódico (YAEESH et al., 2006).

Estudo *in vivo* utilizando ratos Wistar machos e fêmeas demonstraram que o extrato aquoso das partes aéreas de *A. millefolium* apresentou potencial efeito antiúlcera, sem sinais relevantes de toxicidade crônica (CAVALCANTI et al., 2006). O extrato aquoso e hidroalcolólico de folhas de *A. millefolium* estão sendo investigados em diferentes estudos devido à capacidade de proteger a mucosa gástrica contra a ação necrosante de etanol, que pode causar danos por danificar e quebrar a camada gelatinosa composta de muco e bicarbonato, que protege o estômago (BAGGIO et al., 2002; CAVALCANTI et al., 2006; POTRICH, 2010).

O efeito farmacológico da *A. millefolium* tem sido atribuído principalmente as sesquiterpenolactonas e ao óleo essencial (HEINRICH et al., 1998). Extratos hidroalcolólicos de *A. millefolium*, constituídos principalmente de rutina (45,2%) e derivados dos ácidos hidroxibenzoico (5,3%) e cafeico (13,3%), apresentaram moderada atividade antinociceptiva periférica em ratos quando comparados com morfina, como controle positivo (PIRES et al., 2009).

As atividades hipotensiva, inotrópica negativa e broncodilatadora do extrato bruto metanólico a 70% de *A. millefolium* também foram avaliadas por Khan e Gilani (2011), empregando modelos em animais *in vivo* e *in vitro*, evidenciando o uso medicinal no tratamento de hiperatividade cardíaca e desordens respiratórias, tais como hipertensão e asma.

Tanto o óleo essencial quanto o extrato bruto etanólico 70% de *A. millefolium* também apresentaram resposta imunológica pela ativação de macrófagos empregando diferentes modelos farmacológicos em ratos (LOPES et al., 2003, 2005).

Na Alemanha, a planta compõe vários medicamentos para o tratamento de dispepsias e sintomas gastrointestinais, sendo indicada como colerética,

antiespasmódica, adstringente e bactericida (BLUMENTHAL; GOLDBERG; BRINCKMANN, 2000). As autoridades brasileiras de saúde, através da RDC/ANVISA nº10 de março de 2010, recomendam as partes aéreas de *A. millefolium* na forma de infuso para a falta de apetite, dispepsia, febre, inflamações e cólicas. Porém alertam que o uso pode causar cefaléia, inflamação e reações alérgicas (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA, 2010).

2.3 Composição química volátil de *Achillea. millefolium* L.

Os estudos fitoquímicos sobre a composição volátil de *A. millefolium* são diversos, mas esses se concentram em países europeus, norte-americanos e asiáticos (AFSHARYPOUR; ASGARY; LOCKWOOD, 1996; GIOGI et al., 2005; GUDAITYTE; VENSKUTONIS, 2007; JUDZENTIENE; MOCKUTE, 2010; ROHLOFF et al., 2000; SHAWIL et al., 2002).

Diferenças na composição química do óleo essencial de folhas e inflorescências (rosas e brancas) de plantas selvagens de *A. millefolium* provenientes de cinco regiões diferentes da Lituânia foram caracterizadas por Judzentiene e Mockute (2010). Foram identificados 65 constituintes nos óleos, sendo nerolidol (9,4–31,9%, em 11 das 20 amostras), óxido de cariofileno (8,4–23,0%, 4 amostras de óleos de folhas), β -pinene (8,0–15,2%, 2 amostras), eudesmol (11,8–15,8%, 2 amostras de óleos de folhas e 1,8-cineol (11,9%, um óleo de inflorescência). Uma característica marcante do óleo essencial de *A. millefolium rosea* (em 8 das 10 amostras) foi a presença majoritária do *E*-nerolidol (11,6-31,9%). As inflorescências biossintetizaram maiores quantidades de nerolidol e β -pineno que as folhas, enquanto que uma correlação inversa foi observada para o óxido de cariofileno e eudesmol. O camazuleno ($\leq 2,7\%$) foi encontrado apenas em seis amostras.

A espécie *A. millefolium* apresenta um alto polimorfismo decorrente do nível de ploidia influenciando a morfologia e a composição química (GUDAITYT; VENSKUTONIS, 2007).

A estabilidade ontogenética na composição química do óleo essencial, quantidade de flavonóides e teor de compostos nitrogenados têm sido relatados por alguns autores como ferramenta adicional para a diferenciação de espécies (KRENN, 1998). Kubelka et al. (1999) relataram que os sesquiterpenos servem como instrumento quimiotaxonômico oferecendo a possibilidade de combinar as questões taxonômicas, com informações farmacológicas relevantes, sendo que os padrões descritos são inerentes à cada espécie.

Hofmann et al. (1992) descreveram em experimento que o óleo essencial de *A. millefolium* possui como compostos majoritários os monoterpenos (30-80%), sesquiterpenos (8-62%) e em menor quantidade por outros compostos (1-3%), como álcoois, ésteres, aldeídos e norcarotenóides. Scheffer (1998) em única pesquisa brasileira utilizando adubação orgânica em *A. millefolium* relatou que os constituintes presentes no óleo essencial foram terpenos (cineol, borneol, pinenos, cânfora, azuleno), derivados terpênicos e sesquiterpênicos, tendo destaque o gama-muroleno que participou da composição com um percentual de 15 a 28%.

Gregio e Moscheta (2006) descreveram que canais secretores de óleo essencial estão presentes no rizoma, no escapo, nas folhas e flores.

Tuberoso e Kowalczyk (2009), avaliando quatro métodos de destilação no teor e composição de óleo essencial de *Achillea millefolium* observaram que há similaridade na qualidade dos metabólitos, porém na quantidade houve diferenças entre os métodos estudados. O método por hidrodestilação utilizando o aparelho de Clevenger apresentou maiores quantidades de monoterpenos e os métodos de extração por hexano, extração por diclorometano e extração assistida por microondas mostraram maior concentração de sesquiterpenos. De forma

geral, pode-se observar entre os monoterpenos que o mais representativo foi o 1,8-cineol, com porcentagens variando entre 10,4% a 17,2%, seguido pelo sabineno (11,6-14,6%), α -terpineol (4,4-5,2%), terpinen-4-ol (2,4-5,7%) e *p*-cimene (2,1-5,1%). Na fração de sesquiterpenos, o que mais se destacou foi γ -eudesmol (8,7-17,9%), seguido por 6S,7R- bisabolone (4,4-14,9%), γ -muruleno (1,3-7,2%), α -bisabolol (1,2-5,8%), β -cariofileno (0,7-4,1%) e óxido cariofileno (1,0-3,0%). O camazuleno foi encontrado em todos os métodos exibindo teor máximo de 0,1%. A maior concentração de 1,8-cineole (17,2%) e borneol (1,6%) ocorreram no método de hidrodestilação pelo aparelho de Clevenger.

2.4 Produção de plantas medicinais em cultivos protegidos de luz

A luz é um fator ambiental de fundamental importância para a sobrevivência dos vegetais. Variações na intensidade, qualidade e periodicidade luminosa afetam o metabolismo das plantas, interferindo no seu crescimento e desenvolvimento. Os fotorreceptores são pigmentos responsáveis pela absorção da luz na região do espectro no azul, no vermelho e no ultravioleta. Esses pigmentos participam do processo fotossintético e mudanças na qualidade do espectro podem promover diferentes respostas fisiológicas, bioquímicas e anatômicas nas plantas *in vivo* e *in vitro* (COSTA et al., 2010a).

A intensidade e a qualidade de luz, em particular, intervêm nas variações do tamanho das folhas, crescimento de caule e vigor, razão caule/raiz, no controle do fotoperíodo, na síntese de metabólitos secundários, entre outros (ATTRIDGE, 1990; WHATER; WHATLEY, 1982). A intensidade da luz afeta o crescimento da planta por seus efeitos diretos sobre a fotossíntese, a abertura estomática e a síntese da clorofila. A qualidade espectral tem sua influência no fototropismo, no controle da germinação e florescimento (KRAMER; KOSLOWSKI, 1960; WHATER; WHATLEY, 1982).

Uma das ferramentas utilizadas para manipular o espectro de luz transmitida às plantas é o uso de malhas. As malhas coloridas representam uma nova tecnologia agrícola, que reúne a proteção física do ambiente de cultivo com a filtragem diferencial da radiação solar, para promover respostas fisiológicas desejáveis, reguladas pela luz (SHAHAK; GUSSAKOVSKY, 2004). Além de exercer pouca modificação sobre o microclima da planta. Nomura et al. (2009), relataram que a malha preta tende a absorver e refletir mais eficientemente comprimentos de onda fora da faixa do visível, promovendo um enriquecimento da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) no interior do ambiente protegido. Enquanto que, nas malhas azul e vermelha, a luz transmitida possui um poder de radiação maior devido ao fato da malha azul apresentar pico de transmitância na região do azul-verde (400-540nm), e a malha vermelha pico de transmitância acima de 590nm (OREN-SHAMIR et al., 2001). Outra malha de proteção é a termorefletora aluminizada, que altera as propriedades da radiação, aumentando sua reflexão, além de permitir controle de temperatura (ALTAFIN, 2005).

A fixação de carbono é um importante mecanismo fisiológico relacionado à produção de óleos essenciais (SANGWAN et al., 2001), onde o nível de radiação está relacionado à produção de metabólitos secundários, pois a formação destes ocorre a partir de rotas bioquímicas originadas no metabolismo primário.

Estudos com plantas medicinais têm demonstrado a influência do uso de malhas no acúmulo de biomassa e produção de óleos essenciais, como em *Melissa officinalis* L. (BRANT et al., 2009), *Origanum vulgare* L. (CORRÊA, 2008), *Ocimum basiculum* L. (CHANG; ALDERSON; WRIGHT, 2008), *Ocimum selloi* Benth (COSTA et al., 2010b), *Mentha arvensis* L. (CHAGAS et al., 2010), *Mentha piperita* L. (PEGORARO et al., 2010), *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq (MATTANA et al., 2010), porém as respostas quanto à intensidade e qualidade da luz são particulares para cada espécie.

Larcher (2004) afirma que plantas de sol, quando crescidas sob forte radiação, têm maior produção de biomassa seca. Chang, Alderson e Wright (2008), verificaram mudanças na morfologia e no crescimento de *Ocimum basilicum* (manjeriço) quando submetidas à níveis de sombreamento, sendo a maior produção de biomassa à pleno sol e a 25% de sombreamento. Em *Origanum vulgare* (orégano), Corrêa (2008) notou que as plantas responderam positivamente à intensidade luminosa, afetando também a produção de óleo essencial. Chagas et al. (2010) observaram para a espécie *Mentha arvensis* maior produção de biomassa seca em plantas cultivadas sob pleno sol e em *Mentha piperita* Pegoraro et al. (2010) afirmaram que o aumento da intensidade de luz e a nutrição do substrato favorecem a produção de biomassa das plantas e o rendimento de óleo essencial. Costa et al. (2010a) concluíram que a manipulação da qualidade da luz em *Ocimum selloi* (elixir paregórico) produziu um efeito positivo em relação à morfogênese enquanto que a intensidade luminosa afetou a produção de biomassa.

Diferentemente dos estudos anteriores, Brant et al. (2009) avaliando *Melissa officinalis* L. sob malhas fotoconversoras, observaram que a exposição à pleno sol interferiu negativamente no acúmulo de biomassa. Em relação ao teor e ao rendimento de óleo essencial, o cultivo sob malha vermelha apresentou menores médias, porém foram constatados maiores concentrações de citral. Outro exemplo do efeito negativo da luz foi constatado por Mattana et al. (2010), que observaram necrose e clorose foliar, baixo acúmulo de biomassa e teor de óleo essencial com o aumento da intensidade luminosa em *Pothomorphe umbellata* (pariparoba).

Estudos recentes com *A. millefolium* verificaram que o sombreamento a 75% provocou baixo acúmulo biomassa da parte aérea tanto no estágio vegetativo quanto no estágio reprodutivo, porém estimulou a síntese de pigmentos fotossintéticos das plantas (LIMA et al., 2011).

O aumento de intensidade luminosa pode provocar maior investimento de fotoassimilados nas raízes, aumentando a proporção de biomassa entre raiz e parte aérea (R/PA). Essa adaptação favorece melhor a captação de água e nutrientes para planta (CHAGAS et al., 2010).

Neste sentido, as respostas a diferentes regimes de qualidade espectral são essenciais para determinação do ambiente capaz de promover maximização da produtividade e qualidade de espécies medicinais.

2.5 Efeito da adubação orgânica em plantas medicinais

Na agricultura orgânica, aconselha-se o uso de recursos locais sempre que possível, por meio da integração das atividades de produção animal com as de produção vegetal, visando à máxima ciclagem de nutrientes no sistema de produção (PEDROSA et al., 2010).

O adubo orgânico exerce três funções principais: fertilizante, corretivo e condicionador do solo. Atua como fertilizante, embora de baixa concentração, sendo necessário usá-lo em maiores quantidades, contém nitrogênio, cálcio, fósforo, potássio, magnésio e enxofre, além dos micronutrientes boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco. Têm efeito corretivo que quando combinando ao manganês, o alumínio e o ferro, reduz ou neutraliza os efeitos tóxicos desses elementos, quando em excesso no solo. Atua como condicionador na melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo, como retenção de água, agregação, porosidade, aumento na capacidade de troca de cátions, facilitando o desenvolvimento e nutrição das plantas (MIYASAKA; NAKAMURA; OKAMOTO, 1997).

Para a produção de plantas medicinais, o cultivo orgânico é o mais indicado, principalmente por se tratar de produtos, muitas vezes, consumidos *in natura* e cultivados por agricultores familiares, complementando-se a renda

mensal, além de reciclar os resíduos orgânicos gerados nas propriedades rurais (PEDROSA et al., 2010). Diversas espécies medicinais vêm sendo estudadas com intuito de sanar a falta de informação sobre seus aspectos agronômicos e fitoquímicos (AMARAL et al., 2008; BIASI et al., 2009; BLANK et al., 2005; COSTA et al., 2008; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2005; PALÁCIO et al., 2007; SANTOS et al., 2009). Assim como conhecer os efeitos da adubação orgânica na produtividade e a síntese de metabólitos secundários em espécies medicinais (BLANK et al., 2005) *Ocimum basilicum* L.; (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2006) *Lychnophora pinaster* Mar.; (PALÁCIO et al., 2007) *Baccharis trimera* DC.; (AMARAL et al., 2008) *Chamomila recutita* L.; (COSTA et al., 2008) *Cymbopogon citratus* D.C.; (COSTA et al., 2008) *Ocimum selloi* Benth.; (BIASI et al., 2009) *Ocimum gratissimum* L.; (SANTOS et al., 2009) *Melissa officinallis* L.; (BRANT et al., 2010) *Aloysia triphylla* Britton.; (CORRÊA et al., 2010) *Origanum vulgare* L.). Os autores sugerem o uso da adubação orgânica como fonte de nutrientes às plantas, favorecendo a produção de biomassa do farmacógeno e a síntese de metabólitos secundários.

Scheffer (1998) em experimento realizado com *A. millefolium* testando diferentes doses de esterco bovino + palha (0, 1, 2, 3, 4 kg m⁻²) constatou que houve incremento na produção de biomassa e rendimento de óleo essencial. O tratamento que recebeu a dose de 3 kg m⁻² de composto orgânico foi a que apresentou maior produção de biomassa e rendimento do óleo essencial. As parcelas não adubadas tiveram uma resposta inferior aos tratamentos adubados, isso indica que a espécie *A. millefolium* responde positivamente à adubação orgânica.

Costa et al. (2008) também observaram influência positiva das doses de adubação com esterco bovino e avícola sobre o crescimento da planta em altura e diâmetro do caule, acúmulo de biomassa seca, rendimento e composição química do óleo essencial, sendo que os maiores valores foram obtidos com a

utilização de esterco bovino nas doses entre 8 e 10 kg m⁻² e esterco avícola nas doses entre 4 e 5 kg m⁻². O componente majoritário do óleo essencial de *Ocimum selloi* (metil chavicol) aumentou sua concentração em aproximadamente 12% independente do tipo e da dose de adubação orgânica em relação ao controle. Porém foi verificado maior número de constituintes químicos no tratamento sem adubação. Costa et al. (2008) demonstraram que a produção de matéria seca de capim limão (*Cymbopogon citratus*) adubadas com esterco avícola tiveram melhor desenvolvimento vegetativo e coloração verde intensa, além das plantas terem produzido maior número de perfilhos quando comparada a adubação com esterco bovino. Com relação ao óleo essencial não houve diferenças entre os tratamentos sobre o teor do óleo de capim limão, porém a adubação com esterco avícola proporcionou maior rendimento de óleo essencial devido à maior produção de material vegetal. Souza et al. (2009) trabalhando com *Melissa officinalis* observou que as plantas apresentaram bom desenvolvimento e produtividade em resposta à adubação orgânica, sendo do esterco bovino foi superior para o rendimento de óleo essencial.

Entretanto, o comportamento é particular à espécie estudada e ao tipo de ambiente ao qual está exposta. Amaral et al. (2008) estudando-se diferentes doses de adubação orgânica e adubação mineral em *Chamomila recutita* concluíram que os níveis de N tiveram maior influência do que a fonte de adubação tanto no desenvolvimento das plantas como na produtividade dos capítulos florais. Quanto à composição do óleo essencial os constituintes majoritários apresentaram uma tendência de maior concentração nas plantas cultivadas sob adubação orgânica em relação ao tratamento 100% de NPK mineral.

Radusiene e Gudaityte (2006) afirmam que a nutrição da planta interfere na produção de proazulenos em *A. millefolium*. Miebler e Arnold (1999) avaliando vários acessos de plantas espontâneas na Lituânia notaram que as

populações tetraploides de *A. millefolium* eram identificadas em locais de alta fertilidade de solo, enquanto que, populações de hexaploide eram encontradas em locais secos e de baixa fertilidade de solo. Os mesmos autores observaram que os íons Mg^{+2} , Mn^{+2} e $H_2PO_4^{-4}$ influenciam positivamente a síntese de proazulenos. O teor do óleo essencial varia com a parte da planta estudada, aproximadamente tem-se 0,18% no caule, 0,41% nas folhas e 1,67% nas flores (SILVA JÚNIOR; VERONA, 1997). A concentração de metabólitos secundários pode estar relacionada à genética da planta. Variedades e linhagens poderão sintetizar mais ou menos componentes dentro de uma mesma espécie e a interação induzida pelo ambiente interferem significativamente na rota metabólica (MIEHLER; ARNOLD, 1999).

Deste modo é relevante pesquisas que visam analisar o comportamento de espécies medicinais em resposta à doses e tipos de adubações, visto que, não há na literatura uma concordância em relação ao desenvolvimento vegetativo e a produção de metabólitos secundários.

REFERÊNCIAS

AFSHARYPUOR, S.; ASGARY, S.; LOCKWOOD, G. B. Volatile constituents of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium* from Iran. **Flavour and Fragrance Journal**, Malden, v. 11, n. 5, p. 265-267, Sept. 1996.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº 10**, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Brasília, 2010. Disponível em:
<http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/resolucao10_09_03_10.pdf>.
Acesso em: 2 jun. 2011.

ALTAFIN, V. L. **Estudo da micropropagação, aclimação e econômico prévio do plantio em campo de Musa spp.** 2005. 78 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.

AMARAL, W. et al. Desenvolvimento, rendimento e composição de óleo essencial de camomila [*Chamomila recutita* (L.) Rauschert] sob adubação orgânica e mineral. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 10, n. 4, p. 1-8, 2008.

ATTRIDGE, T. H. The natural light environment. In: _____. **Light and plant responses**. London: E. Arnold, 1990. p. 1-5.

BAGGIO, C. H. et al. Action of crude aqueous extract of leaves of *Achillea millefolium* L. (Compositae) on gastrointestinal tract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 31-33, jan./fev. 2002.

BALBACH, A. **As plantas curam: vida plena**. Itaquaquecetuba: Edificação do Lar, 1995. 218 p.

BENEDEK, B. et al. Choleric effects of yarrow (*Achillea millefolium* s.l.) in the isolated perfused rat liver. **Phytomedicine**, Jena, v. 13, n. 9/10, p. 702-706, nov. 2006.

BENEDEK, B.; KOPP, B.; MELZIG, M. F. *Achillea millefolium* L. s.l: is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 113, n. 2, p. 312-317, Sept. 2007.

BIASI, L. A. et al. Adubação orgânica na produção, rendimento e composição do óleo essencial da alfavaca quimiotipo eugenol. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 35-39, jan. 2009.

BLANK, A. F. et al. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo de manjerição cv. Genovese. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 175-180, ago. 2005.

BLUMENTHAL, M.; GOLDBERG, A.; BRINCKMANN, J. **The complete german commission E monographs: therapeutic guide to herbal medicines**. Boston: Integrative Medicine Communications, 2000. p. 419-421.

BRANT, R. S. et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1401-1407, ago. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS**. Brasília, 2009. Disponível em:
<<http://189.28.128.100/portal/saude/profissional/vi>>. Acesso em: 9 maio 2011.

CANDAN, F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 87, n. 2/3, p. 215-220, Aug. 2003.

CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. **Plantas medicinais, condimentares e aromáticas: descrição e cultivo**. Guaíba: Agropecuária, 1995. 196 p.

CAVALCANTI, A. M. et al. Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 107, n. 2, p. 277-284, Sept. 2006.

CHAGAS, J. H. et al. Produção de biomassa seca em plantas de *Mentha arvensis* L. cultivada sob malhas fotoconversoras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 50., 2010, Guarapari. **Anais...** Guarapari: ABH, 2010. p. 3422-3427.

CHANG, X.; ALDERSON, P. G.; WRIGHT, C. J. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 1/3, n. 63, p. 216-223, May 2008.

CORRÊA, R. M. **Adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz no crescimento de plantas, características anatômicas e composição química do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.)**. 2008. 131 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

CORRÊA, R. M. et al. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 80-89, jan. 2010.

COSTA, L. C. B. et al. Efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 16-20, 2008.

_____. Effects of coloured shade netting on the vegetative development and leaf structure of *Ocimum selloi*. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 2, p. 349-359, 2010a.

COSTA, L. C. B.. Yield and composition of the essential oil of *Ocimum selloi* Benth. cultivated under colored netting. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 22, n. 1, p. 34-39, 2010b.

CRONQUIST, A. J. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1981. 1028 p.

GIORGI, A. et al. Yarrow (*Achillea millefolium* L.) growth at different altitudes in Central Italian Alps: biomass yield, oil content and quality. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Binghamton, v. 11, n. 3, p. 47-58, Sept. 2005.

GREGIO, S. J. D.; MOSCHETA, I. S. Anatomia de raiz, caule e folha e identificação de estruturas secretoras de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 327-334, 2006.

GUDAITYTE, O.; VENSKUTONIS, P. R. Chemotypes of *Achillea millefolium* transferred from 14 different locations in Lithuania to the controlled environment. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 35, n. 9, p. 582-592, Sept. 2007.

HEINRICH, M. et al. Ethnopharmacology of Mexican asteraceae (Compositae). **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 38, p. 539-565, Sept. 1998.

HOFMANN, L. et al. Essential oil composition of three polyploids in the *Achillea millefolium* 'complex'. **Phytochemistry**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 537-542, Feb. 1992.

JUDZENTIENE, A.; MOCKUTE, D. Essential oil composition of two yarrow taxonomic forms. **Central European Journal of Biology**, Warsaw, v. 5, n. 3, p. 346-352, June 2010.

KHAN, A.; GILANI, A. H. Blood pressure lowering, cardiovascular inhibitory and bronchodilatory actions of *Achillea millefolium*. **Phytotherapy Research**, Malden, v. 25, n. 4, p. 577-583, Apr. 2011.

KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, T. H. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1960. 745 p.

KRENN, L. Flavonoide verschiedener schafgarben-taxa. **Analytik und Wirkung in Drogenreport**, Inhaltsstoffe, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1998.

KUBELKA, W. et al. Chemotaxonomic relevance of sesquiterpenes within the *Achillea millefolium* group. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 437-444, June 1999.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2004. 531 p.

LEMMENS-GRUBER, R. et al. Investigation of the spasmolytic activity of the flavonoid fraction of *Achillea millefolium* s.l. on isolated guinea-pig ilea. **Arzneimittel-Forschung-Drug Research**, Aulendorf, v. 56, n. 8, p. 582-588, 2006.

LIMA, M. C. et al. Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio em mil-folhas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 45-50, Jan. 2011.

LOPES, F. C. M. et al. Avaliação da atividade imunológica de *Achillea millefolium* L. ("mil-folhas"). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 13, n. 2, p. 11-13, 2003.

_____. Effect of the essential oil of *Achillea millefolium* L. in the production of hydrogen peroxide and tumor necrosis factor- α in murine macrophages. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 401-405, jul. 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 384 p.

MATTANA, P. et al. Shade level effects on yield and chemical composition of the leaf essential oil of *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 4, p. 414-418, Aug. 2010.

MIEHLER, B.; ARNOLD, C. G. Predicting presence of proazulenes in the *Achillea millefolium* group. **Folia Geobotanica**, Dordrecht, v. 34, n. 1, p. 143-161, 1999.

MIYASAKA, S.; NAKAMURA, Y.; OKAMOTO, H. **Agricultura natural**. 2. ed. Cuiabá: SEBRAE-MT, 1997. 77 p. (Coleção Agroindústria, 6).

MONTANARI, T.; CARVALHO, J. E.; DOLDER, H. Antispermatic effect of *Achillea millefolium* L. in mice. **Contraception**, New York, v. 58, n. 5, p. 309-331, Sept. 1998.

MONTANARI JÚNIOR, I.; PEREIRA, B.; MAGALHÃES, P. Influência da fertilização NPK na biomassa e no teor de alcalóides de *Atropa belladonna* Linn. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 71-72, set. 1998.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH mass spectral library**. Gaithersburg, 2008. Software.

NILFOROUSHZADEH, M. A. et al. Comparison of *Thymus vulgaris* (Thyme), *Achillea millefolium* (Yarrow) and propolis hydroalcoholic extracts versus systemic glucantime in the treatment of cutaneous leishmaniasis in balb/c mice. **Journal of Vector Borne Diseases**, Dwarka, v. 4, n. 45, p. 301-306, Dec. 2008.

NOMURA, E. S. et al. Crescimento e produção de antúrio cultivado sob diferentes malhas de sombreamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1394-1400, maio 2009.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C. et al. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 735-739, jul. 2005.

OREN-SHAMIR, M. et al. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Kent, v. 76, n. 3, p. 353-361, Mar. 2001.

PALÁCIO, C. P. A. M. et al. Biomassa e óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* (Less) DC.) sob influência de fontes e doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 58-63, maio/jun. 2007.

PEDROSA, M. W. et al. Orientações gerais para cultivo orgânico e hidropônico de plantas medicinais e aromáticas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 57-67, 2010.

PEGORARO, R. L. et al. Produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição do substrato. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 631-637, dez. 2010.

PIRES, J. M. et al. Antinociceptive peripheral effect of *Achillea millefolium* L. and *Artemisia vulgaris* L.: both plants known popularly by brand names of analgesic drugs. **Phytotherapy Research**, Malden, v. 23, n. 2, p. 212-219, Apr. 2009.

POTRICH, F. B. Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: involvement of the antioxidant system. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 130, n. 1, p. 85-92, July 2010.

RADUSIENE, J.; GUDAITYTE, O. Distribution of proazulenes and productivity in *Achillea millefolium* L. spontaneous populations. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, p. 155-158, 2006. Número especial.

ROHLOFF, J. et al. Production of yarrow (*Achillea millefolium* L.) in Norway: essential oil content and quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 12, p. 6205-6209, Dec. 2000.

SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 34, n. 1, p. 3-21, Jan. 2001.

SANTOS, M. F. et al. Esterco bovino e biofertilizante no cultivo de erva-cidreira-verdadeira (*Melissa officinalis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 355-359, jul./ago. 2009.

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

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E. Color nets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulture**, Leuven, v. 2, n. 108, p. 143-151, 2004.

SHAWL, A. S. et al. Essential oil composition of *Achillea millefolium* L. growing wild in Kashmir, India. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 17, n. 3, p. 165-168, Sept. 2002.

SILVA JÚNIOR, A. A. S.; VERONA, M. L. F. **Plantas medicinais e aromáticas**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 1997. 456 p.

SIMIC, N. et al. Composition and antibacterial activity of *Achillea asplenifolia* essential oil. **Journal Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 14, n. 1, p. 76-78, Jan. 2002.

SOSA, S. et al. Topical anti-inflammatory activity of a new germacrane derivative from *Achillea pannonica*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 7, p. 654-658, July 2001.

SOUZA, P. et al. Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in rats. **Phytomedicine**, Jena, 2011. In press.

TUBEROSO, C. I. G.; KOWALCZYK, A. Chemical composition of the essential oils of *Achillea millefolium* L. isolated by different distillation methods. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 21, n. 2, p. 108-111, Apr. 2009.

TUNON, H.; THORSELL, W.; BOHLIN, L. Mosquito repelling activity of compounds occurring in *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Economic Botany**, New York, v. 48, n. 2, p. 111-120, Apr. 1994.

WHATER, J. M.; WHARTLEY, F. R. **A luz na vida das plantas**. São Paulo: EDUSP, 1982. 101 p.

YAEESH, S. et al. Studies on hepatoprotective, antispasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *Achillea millefolium*. **Phytotherapy Research**, Malden, v. 7, n. 20, p. 546-551, 2006.

ARTIGO 1

**BIOMASSA E ÓLEO ESSENCIAL DE *Achillea millefolium* L. EM
CULTIVO PROTEGIDO SOB DIFERENTES RADIAÇÕES UV**

Elza de Oliveira Ferraz¹; Suzan Kelly Vilela Bertolucci¹; José Eduardo Brasil Pereira Pinto¹; Aurislaine Ribeiro Santos¹; Helbert Rezende de Oliveira Silveira¹

¹Setor de Plantas Mediciniais, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, CEP 37200-000
E-mail: elza.o.ferraz@hotmail.com

Preparado de acordo com a Norma NBR 6022:2003

RESUMO

A luz é o principal fator que controla o crescimento, o desenvolvimento e o metabolismo das plantas. A *Achillea millefolium* L. (Asteraceae), popularmente conhecida como mil-folhas, é uma das espécies que constam na RENISUS, sendo atribuída atividades analgésica e anti-inflamatória. Objetivou-se avaliar a produção de biomassa, os teores de pigmentos fotossintetizantes e carboidratos, produção e composição química do óleo essencial em plantas de *A. millefolium* em cultivo protegido sob diferentes radiações UV. Plantas de *A. millefolium* foram cultivadas em cinco ambientes: 1) pleno sol e malhas 2) preta, 3) aluminizada, 4) azul e 5) vermelha (todas malhas com 50% de irradiância). O experimento foi realizado em DIC, constituído por 4 repetições/tratamento contendo 4 plantas/repetição. Duas épocas de colheita foram avaliadas, aos 120 dias e a segunda aos 180 dias após o plantio. Os resultados evidenciaram que o cultivo a pleno sol favoreceu o acúmulo de biomassa, teor e rendimento do óleo essencial. O constituinte majoritário em maior concentração no óleo essencial em foi o camazuleno. Os teores de clorofilas e carboidratos também são influenciados pela qualidade e intensidade luminosa.

Palavras-chave: Mil-folhas. Malhas coloridas. Malha termorrefletora. Composição volátil.

**BIOMASS AND ESSENTIAL OIL OF *Achillea millefolium* L.
PROTECTED UNDER DIFFERENT CULTIVATION IN UV
RADIATION**

ABSTRACT

Light is the main factor to control growth, development and metabolism of the plants. *Achillea millefolium* L. (Asteraceae), popularly known as yarrow, is a species listed in RENISUS, being assigned activities and anti-inflammatory analgesic. The objective was to assess the production of biomass, the levels of photosynthetic pigments and carbohydrates, production and chemical composition of essential oil in *A. millefolium* plants in greenhouse under different UV radiation. *A. millefolium* plants were grown in five environments: 1) full sunlight and net 2) black, 3) aluminized, 4) blue 5) red (all nets with 50% irradiance). The experiment was conducted in complete random design containing four plants with four replicate. The harvested samples were evaluated 120 days and the second 180 days after planting. The results showed that growing in full sunlight favored the accumulation of biomass and essential oil content and yield. The major constituent in the highest concentration in the essential oil was chamazulene. The levels of chlorophylls and carbohydrates were also influenced by the quality and intensity.

Keywords: Yarrow. Colorful nets. Thermal reflector net. Volatile composition.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade das plantas medicinais é determinada por características genéticas associadas à alta produção de biomassa, biossíntese e acúmulo de metabólitos secundários. O controle das condições de cultivo contribui para a produção de uma matéria-prima vegetal de alta qualidade. Dentre os fatores abióticos que podem ser controlados destacam-se a intensidade e a qualidade do espectro de luz incidente nas plantas. A luz é o principal fator que controla o crescimento, o desenvolvimento e o metabolismo das plantas, sendo afetados pela quantidade, direção, duração e qualidade da luz em todos os estádios de crescimento (CHANG; ALDERSON; WRIGHT, 2008).

Várias tecnologias têm surgido a fim de aumentarem a produtividade das culturas. Uma das novidades do mercado na área comercial de cultivo protegido é a introdução de filtros espectrais, os quais transmitem seletivamente certos comprimentos de ondas, alterando conseqüentemente, a resposta fotomorfogênica das plantas (TSORMPATSIDIS et al., 2008). Tais respostas traduzem em alterações no crescimento e desenvolvimento das plantas, na sua morfologia e funções fisiológicas como resultado da adaptação a uma condição ambiental diferente (TAIZ; ZEIGER, 2004). Porém, as respostas da qualidade espectral sobre as plantas são muito variáveis em função das espécies.

A malha ChromatiNet[®] vermelha foi produzida com a finalidade de alterar o espectro da luz, reduzindo as ondas azuis, verdes e amarelas e acrescentando as ondas na faixa espectral do vermelho e vermelho distante, com transmitância para comprimentos de ondas superiores a 590nm. A malha ChromatiNet[®] azul, por sua vez, muda o espectro da luz, filtrando as ondas na faixa do vermelho e vermelho distante e ampliando a transmitância na região do azul-verde (400-540nm) (OLIVEIRA et al., 2008; SUÁREZ, 2008). A malha preta (sombrite) é considerada neutra, ajudando apenas na redução da incidência

de radiação sobre as plantas, sem influência na qualidade espectral da luz (OLIVEIRA et al., 2008; OREN-SHAMIR et al., 2001).

Outra nova geração de malha é a termorrefletora, que também é uma opção recentemente empregada no Brasil. Essas malhas permitem manejar a diferença de temperatura entre o dia e a noite, possibilitando a formação de diversos microclimas, de acordo com a malha utilizada, protegendo as espécies vegetais da radiação solar excessiva e conservando o calor no interior do ambiente (POLYSACK INDÚSTRIAS LTDA, 2008).

Em plantas medicinais alguns trabalhos têm demonstrado a influência da manipulação da qualidade da luz na produção de fitomassa e nos teores de metabólitos secundários por induzir alterações fisiológicas e bioquímicas nas plantas (AFREEN; ZOBAYED; KOZAI, 2005; CHAGAS et al., 2010; CORRÊA, 2008; COSTA et al., 2010a, 2010b; PINTO et al., 2007).

A *Achillea millefolium* L. é uma espécie medicinal, popularmente conhecida como mil-folhas, aquiléa e novalgina que possui atividades antimicrobiana, antiespasmódica, anti-inflamatória, carminativa e estimulante (FIGUEIREDO et al., 1995). De acordo com a história, o óleo essencial despertou o interesse dos pesquisadores, devido à coloração azul do óleo essencial de algumas espécies de *A. millefolium* e suas propriedades farmacológicas (CHANDLER; HOOPER; HARVEY, 1982). Os conhecimentos acerca de práticas agronômicas que objetivam o aumento da produtividade da espécie *A. millefolium* são incipientes. Tendo em vista a carência destas informações, objetivou-se avaliar a influência de malhas coloridas e termorrefletora na produção de biomassa e de respostas metabólicas (teores de carboidratos, de pigmentos fotossintetizantes, carboidratos e óleo essencial e na composição química do óleo essencial) de *A. millefolium*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Identificação botânica da espécie

Exsicatas de *A. millefolium* foram herborizadas e depositadas no herbário do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sob o registro ICN 187014.

2.2 Caracterização do local

O ensaio foi conduzido na Fazenda Gota da Esperança do Setor de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA).

2.3 Preparo das mudas e transplântio

As mudas do material vegetal originaram-se de plantas matrizes de *Achillea millefolium* L. pertencentes ao Horto Medicinal do DAG/UFLA.

As mudas foram obtidas por propagação de rizomas utilizando estacas com cerca de 3 cm de comprimento, as quais foram enraizadas em bandejas de poliestireno expandido de 72 células utilizando-se substrato comercial (Plantmax[®]). As mudas foram mantidas em ambiente protegido com 60% de sombreamento, umidade relativa de 75% e temperatura média de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Após o enraizamento das mudas e aclimatização foram transplantadas para vasos plásticos de 10 litros de capacidade, contendo terra (latossolo vermelho escuro) misturada com esterco bovino na quantidade de 6 kg m^{-2} . As plantas foram cultivadas sob malhas preta (sombrite); termorrefletora aluminizada

(Aluminet[®]); azul (ChromatiNet[®]) e vermelha (ChromatiNet[®]) e, também, sob pleno sol. Todas as malhas avaliadas interceptaram a radiação solar em 50%.

A terra e o adubo orgânico utilizados no experimento foram analisados pelo Laboratório de Análise de Solos do Departamento de Ciências do Solo (DCS) da UFLA (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 Análise química do solo utilizado no experimento com plantas de *Achillea millefolium* L., UFLA, Lavras, 2011

| Amostra | pH | P | K | Ca | Mg | Al | $\frac{H^+}{Al}$ | SB | t | T | V | M | MO | P-rem |
|---------|------------------|---------------------|----|-----|-----|----|------------------------------------|-----|-----|-----|------|----------------------|--------------------|-------|
| | H ₂ O | mg dm ⁻³ | | | | | cmol _c dm ⁻³ | | | | % | dag kg ⁻¹ | mg L ⁻¹ | |
| Terra | 5,6 | 0,6 | 14 | 0,5 | 0,1 | 0 | 2,1 | 0,6 | 0,6 | 2,7 | 23,4 | 0 | 1,4 | 4,1 |

Onde:

SB = Soma de bases

t= Capacidade de troca catiônica efetiva

T= Capacidade de troca catiônica total

V= Saturação por bases

M= Saturação por alumínio

MO= Matéria orgânica

P-rem= Fósforo remanescente

Tabela 2 Análise química do esterco bovino utilizado no experimento com plantas de *Achillea millefolium* L., UFLA, Lavras, 2011

| Material | N | P | K | Na | Ca | Mg | S | B | Cu | Fe | Mn | Zn |
|----------|--------------------|-----|------|-----|-----|-----|---------------------|-----|----|----------|-------|-------|
| | g kg ⁻¹ | | | | | | mg kg ⁻¹ | | | | | |
| EB | 18,0 | 5,1 | 13,0 | 1,5 | 4,1 | 3,2 | 2,6 | 5,6 | 39 | 12.848,0 | 461,0 | 150,0 |

2.4 Condução do experimento

O experimento foi conduzido durante o período de 16 de abril a 16 de outubro de 2010. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos e quatro repetições, onde cada parcela foi constituída de quatro plantas (uma planta por vaso), totalizando 16 vasos por tratamento.

2.5 Análise de biomassa

As análises de biomassa foram realizadas em duas épocas (colheitas). A primeira colheita foi realizada após 120 dias do plantio (dia 16 do mês de agosto) e a segunda colheita (rebrotas) aos 180 dias do plantio (dia 16 do mês de outubro). Na primeira colheita, determinou-se apenas o acúmulo de biomassa seca da parte aérea (folhas) (BPA, g planta⁻¹). Na rebrotas, o crescimento das plantas foi determinado pelo acúmulo de biomassa seca da parte aérea (BPA, g planta⁻¹), da raiz (BSR, g planta⁻¹) e a relação raiz: parte aérea (R/PA).

Tanto na primeira quanto na segunda colheita, as partes aéreas de cada planta foram colhidas, acondicionadas em sacos de papel kraft e secas em estufa com circulação forçada de ar à $38 \pm 1^\circ\text{C}$, até peso constante. Na segunda colheita, as raízes foram lavadas sob água corrente e, em seguida, retirou-se a umidade excessiva, acondicionou-as em sacos de papel kraft e secou em estufa nas mesmas condições das partes aéreas. As biomassas foram então mensuradas em balança analítica, com precisão de 0,01 mg.

As médias das temperaturas, precipitação, umidade e insolação referentes aos meses de abril a outubro durante a condução do experimento estão relacionadas na Tabela 3.

Tabela 3 Médias de temperatura (°C), precipitação (mm), umidade (%) e insolação (h dia⁻¹) durante os meses de abril à outubro de 2010. UFLA, Lavras, 2011

| Média dos Meses | Temp. média (°C) | Precipitação (mm) | UR (%) | Insolação (h dia ⁻¹) |
|-----------------|------------------|-------------------|--------|----------------------------------|
| Abril | 21,0 | 51,4 | 69 | 7,7 |
| Maio | 18,5 | 10,4 | 59 | 7,5 |
| Junho | 16,1 | 3,4 | 69 | 7,9 |
| Julho | 17,7 | 13,9 | 68 | 7,7 |
| Agosto | 18,1 | 0,0 | 53 | 9,8 |
| Setembro | 20,1 | 43,4 | 61 | 7,7 |
| Outubro | 20,8 | 143,5 | 70 | 6,2 |

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia - INEMET (2010)

2.6 Quantificação de pigmentos fotossintetizantes

A quantificação dos pigmentos fotossintetizantes foi realizada no final do experimento. Para as análises de clorofila *a*, *b*, total e carotenóides foram retiradas ao acaso duas folhas completamente expandidas de plantas de cada tratamento e, posteriormente, envolvidas em papel alumínio e mantidas em caixa de isopor com gelo para o transporte das amostras do campo até o laboratório. A extração dos teores de clorofilas *a*, *b*, total e carotenóides foi realizada conforme metodologia de Arnon (1949). Tomaram-se alíquotas de 0,1g de tecido foliar, sem a nervura central, de cada tratamento, as quais foram maceradas em graal com pistilo com 5 mL de acetona 80% (v/v). Os extratos foram filtrados para um balão volumétrico de 10 mL e o volume completado com o mesmo solvente. Em seguida, foram realizadas as leituras espectrofotométricas a 470 nm, 647 nm e 663 nm num espectrofotômetro V/UV Beckman modelo 640 B. Os teores de clorofilas foram determinados conforme as equações abaixo e expressos em mg g⁻¹ de biomassa fresca de tecido foliar (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001).

Clorofila *a* = $(12,25 \times A_{663} - 2,79 \times A_{647}) \times (V/1000w)$;

Clorofila *b* = $(21,5 \times A_{647} - 5,10 \times A_{663}) \times (V/1000w)$;

Carotenóide total (xantofilas e carotenóides) = $(1000 \times A_{470} - 1,82 \text{ Chl } a - 85,02 \text{ Chl } b)/198 \times (V/1000w)$, onde:

A = absorvância dos extratos no comprimento de onda indicado;

V = volume final do extrato clorofila-acetona;

W = matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado.

A = absorvância dos extratos no comprimento de onda indicado;

Chl *a* = teor de clorofila *a*;

Chl *b* = teor de clorofila *b*;

Sendo que a soma das clorofilas *a* e *b* representa o resultado da clorofila total.

2.7 Quantificação de carboidratos

A quantificação dos açúcares foi realizada no final do experimento. A extração de açúcares solúveis totais foi realizada a partir de folhas e raízes pela homogeneização de 300 mg de massa seca em 5,0 mL de tampão fosfato de potássio, 100 mM, pH 7,0, seguido de banho-maria por 30 minutos a 40°C. O homogenato foi centrifugado a 5.000g por 20 minutos, coletando-se o sobrenadante. O processo foi repetido e os sobrenadantes combinados. Após os processos de homogeneização e centrifugação dos tecidos vegetais já descritos anteriormente para a obtenção dos extratos brutos o pellet foi novamente ressuspenso com 8 mL do tampão acetato de potássio 200 mM, pH 4,8. Em seguida foram adicionadas 12,6 unidades da enzima amiloglucosidase, incubando-se o homogenato em banho-maria a 40°C por duas horas. Após a

centrifugação a 5.000g por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e o volume completado para 15 mL. Para a quantificação do amido foi utilizado o método da Antrona (DISCHE, 1962).

O Método da Antrona consiste em reações de condensação que utilizam reagentes ácidos para desenvolvimento de cor. Neste método o hidroxiantraceno, que é uma substância estável, sólida, incolor, com ponto de fusão a 154°C e peso molecular de 194,23 Mol, a reação é realizada em meio fortemente ácido, onde há hidrólise dos dissacarídeos e formação de furfurais, os quais reagem com a antrona formando um produto de coloração azul esverdeada, que é quantificado colorimetricamente. A antrona (9,10-diidro-9-oxiantraceno) reage especialmente com carboidratos em solução concentrada de ácido sulfúrico produzindo uma característica coloração verde azulada. A cor é atribuída à reação dos produtos de degradação, hidroximetilfurfural ou furfural com a antrona. A quantificação foi feita com espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 620nm, utilizando uma curva padrão de glicose com concentrações variando de 0 a 60 µg / mL.

A reação do reagente fenol com ácido sulfúrico é um método simples, rápido, sensível, exato, específico e largamente aplicado para carboidratos. Praticamente todas as classes de açúcares, incluindo derivados de açúcares, oligossacarídeos e polissacarídeos, podem ser determinados. A cor produzida é estável e os resultados são reproduzíveis.

2.8 Extração e análises do óleo essencial

Antes da extração do óleo essencial a umidade residual do material vegetal seco foi determinada por radiação no infravermelho, utilizando uma balança MB45 Ohaus[®], com secagem programada para 105°C por 5 min. Os resultados foram expressos em perda percentual de umidade em massa através

da média de três determinações, utilizando 1g das folhas de *A. millefolium* em cada determinação e os valores obtidos empregados nos cálculos dos teores e rendimentos de óleo essencial.

A extração do óleo essencial de *A. millefolium* foi realizada pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, utilizando-se 40 g de biomassa seca das folhas (BPA), em 500 mL de água destilada por um período de 90 min, quatro repetições por tratamento, utilizando um delineamento experimental inteiramente casualizado. O óleo essencial foi purificado por partição líquido-líquido com diclorometano (3×15 mL). A fase orgânica foi reunida e tratada com cerca de 5 g de sulfato de magnésio anidro durante 30 min. Após esse período a solução foi filtrada e o solvente evaporado a temperatura ambiente, sob capela de exaustão de gases. Foram determinados o teor ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ BPA) e o rendimento (mg planta^{-1}) do óleo essencial na base seca das folhas.

A análise da composição química do óleo essencial das folhas de *A. millefolium* foi realizada no Laboratório de Fitoquímica do Setor de Plantas Medicinais do DAG/UFLA. Para essas análises utilizou-se uma amostra composta, compreendida da reunião de alíquotas contidas por massas equivalentes do óleo essencial das repetições de cada tratamento.

As análises quantitativas do óleo foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplado a um detector de ionização de chama de hidrogênio (CG-DIC) em um sistema Agilent® 7890A equipado com coluna capilar de sílica fundida HP-5 (30 m de comprimento \times 0,25 mm de diâmetro interno \times 0,25 μm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). Utilizou-se hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min; as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 220 °C e 240 °C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60 °C com uma rampa de temperatura de 3° C/min até 150 °C, seguido por uma isoterma de 10 min e, posteriormente, de uma rampa de 10 °C/min até 270

°C. O óleo foi diluído em acetato de etila (1%, v/v) e injetado automaticamente no cromatógrafo empregando volume de injeção de 1,0 µL, no modo *split* a uma razão de injeção de 1:50.

As análises qualitativas do óleo foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando-se um equipamento Agilent® 5975C, operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scan/s, com um intervalo de aquisição de massas de 40-400 *m/z*. As condições cromatográficas foram as mesmas empregadas nas análises quantitativas.

Os componentes foram identificados por comparação de seus índices de retenção calculados (IK_c) com dados de espectros de massas e índices de retenção (IK) de literaturas (ADAMS, 2007; KOTAN et al., 2010) e por comparação dos espectros de massas com o banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY - NIST, 2008). Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados utilizando uma curva de calibração de uma série de *n*-alcanos, C₈-C₂₀ (SIGMA CHEMICAL CO.; ST. LOUIS, MO) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras. A concentração dos constituintes foi calculada através da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra, obtida pela análise no CG-DIC.

Foram considerados constituintes majoritários os quatro constituintes que apresentaram porcentagem relativa de área dos picos acima de 5%, independente da condição experimental.

2.9 Análise estatística

Para as análises estatísticas dos dados empregou-se o programa estatístico Sisvar®, versão 5.0 (FERREIRA, 2007). As médias entre os

tratamentos foram submetidas à análise de variância, pelo teste de F e aplicado o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Biomassa seca

Durante a condução do experimento, a área experimental foi invadida por animais de pastejo, na semana em que os experimentos seriam coletados. Isso resultou na perda das plantas cultivadas ao pleno sol na primeira colheita, por isso para esse ambiente apenas a rebrota foi avaliada. Em ambas as colheitas as plantas estavam no estágio vegetativo.

O cultivo sob as malhas afetou o acúmulo de biomassa nas plantas de *A. millefolium*, os dados obtidos estão apresentados na Tabela 4. Na primeira colheita, realizada no mês de agosto, observou-se que as plantas de *A. millefolium* cultivadas sob malha termorrefletora apresentaram maior acúmulo de BPA (22,57 g) diferindo estatisticamente das demais. O menor acúmulo foi obtida com a malha preta (9,81 g). A malha termorrefletora é usualmente empregada para o controle térmico devido ao bloqueio da radiação infravermelha. Em termos de qualidade espectral, a malha termorrefletora fornece cerca de 15% a mais de luz difusa, aumentando a fotossíntese da planta (POLYSACK INDÚSTRIAS LTDA, 2011).

Tabela 4 Produção de biomassa seca de plantas de *Achillea millefolium* L. cultivadas sob diferentes malhas, durante a primeira e a segunda colheita. BPA: biomassa seca da parte aérea, BSR: biomassa seca de raízes, R/PA: relação raiz/parte aérea. UFLA, Lavras, 2011

| Malhas | 1ª colheita | | 2ª colheita | |
|------------------------|-------------|----------|-------------|-----------|
| | BPA (g) | BPA (g) | BSR (g) | R/PA |
| Pleno sol | - | 36,78 A | 49,07 A | 1,33 A |
| Termorrefletora | 22,57 A | 35,47 A | 17,68 B | 0,50 C |
| Vermelha | 13,73 B | 29,67 B | 42,47 A | 1,43 A |
| Azul | 11,99 B | 25,81 C | 22,50 B | 0,87 B |
| Preta | 9,81 C | 25,71 C | 26,01 B | 1,01 B |
| CV (%) | 10 | 7 | 15 | 14 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Na segunda colheita, realizada no mês de outubro houve diferença entre as malhas. As plantas que produziram maior quantidade de BPA foram àquelas submetidas a pleno sol (36,78 g) e sob a malha termorrefletora (35,47 g). Os menores resultados foram observados pelas malhas azul e preta, respectivamente, 25,81 g e 25,71 g que não diferiram entre si. Os resultados evidenciaram que a qualidade espectral interfere no desenvolvimento vegetativo da espécie. Segundo Shahak (2008), a malha preta reduz a quantidade de luz que chega às plantas, mas não afeta a qualidade de luz, bem como não modifica a composição espectral e nem o conteúdo de luz difusa. Os efeitos das malhas azuis e vermelhas são atribuídos ao aumento/redução das bandas espectrais no azul *versus* vermelho e vermelho-distante, mas a difusão da luz é maior nas malhas coloridas que na malha preta (SHAHAK et al., 2004).

Embora as plantas cultivadas sob malha termorrefletora tivessem apresentado expressivo acúmulo de BPA, o crescimento da raiz foi consideravelmente afetado. Esse tratamento foi o que demonstrou menor crescimento das raízes (17,68g), em termos de valor numérico, embora não tenha apresentado diferença estatística significativa em relação as malhas azul e preta (Tabela 4).

As plantas sob cultivo a pleno sol apresentaram folhas com coloração verde-amarelada e pouca expansão foliar. Já as cultivadas em ambientes protegidos tiveram maior expansão foliar e apresentaram coloração verde intensa. A coloração é um parâmetro importante a ser considerado nas análises organolépticas de controle de qualidade de drogas vegetais, o que se torna uma vantagem ao cultivo sob a malha termorrefletora.

Os melhores resultados de acúmulo de biomassa, tanto de BPA quanto de BSR, foram observados nas plantas cultivadas sob efeito da radiação solar plena.

Conforme Chang, Alderson e Wright (2008), a redução na irradiância leva a redução na taxa de fotossíntese e, conseqüentemente, a redução da taxa de crescimento e, provavelmente, esse fator corroborou para os resultados observados em *A. millefolium* cultivadas sob as malhas (Tabela 4). Vale ressaltar que *A. millefolium* caracteriza ser uma ‘planta de sol’, já que a radiação solar plena proporcionou ganhos expressivos nas BPA e BSR. Lima et al. (2011) corroboram com a influência da intensidade de luz no crescimento de *A. millefolium*, pois demonstraram que o sombreamento à 75% reduziu o acúmulo de massa seca da parte aérea em torno de 50%.

Outros estudos também relacionaram o aumento da intensidade luminosa com alta produção de biomassa, tais como *Bacharis trimera* (SILVA et al., 2006), *Ocimum selloi* (COSTA et al., 2010b) e *Mentha arvensis* (CHAGAS et al., 2010).

Os resultados obtidos com *A. millefolium* demonstraram diferentes respostas no acúmulo de biomassa frente às diferentes condições de qualidade espectral da luz. As novas tecnologias de manipulação espectral foram desenvolvidas para melhorar a produtividade das plantas, portanto é um novo aspecto a ser considerado nas pesquisas com plantas medicinais, uma vez que a luz é o principal fator que controla o crescimento, o desenvolvimento e o

metabolismo vegetal (CHANG; ALDERSON; WRIGHT, 2008). Pouco ainda se sabe sobre os mecanismos fisiológicos que estão por trás das respostas das plantas cultivadas em condições de radiação seletiva. O presente estudo evidenciou que o acúmulo de biomassa seca da parte aérea em plantas de *A. millefolium* são maiores sob cultivo a pleno sol e sob malha termorrefletora. Porém, para a produção de uma droga vegetal com melhor característica organoléptica o cultivo sob malha termorrefletora poderia ser recomendado. Mas, considerando que a qualidade de plantas medicinais é determinada pelo acúmulo de biomassa e teores de princípios ativos, tais parâmetros devem ser analisados conjuntamente para uma recomendação precisa.

3.2 Teores de pigmentos fotossintetizantes

As concentrações de clorofilas e carotenóides apresentaram variações entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 Teores de pigmentos fotossintetizantes em folhas de *Achillea millefolium* L. cultivadas sob diferentes malhas. UFLA, Lavras, 2011

| Malhas | Clorofila a | Clorofila b | Clorofila a/b | Clorofila total | Carotenóides totais |
|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------|-----------------|---------------------|
| mg g⁻¹ Folha Fresca | | | | | |
| Pleno sol | 0,90 A | 0,69 B | 1,32 B | 1,59 B | 0,16 B |
| Termorrefletora | 1,08 A | 1,28 A | 0,85 C | 2,36 A | 0,05 C |
| Vermelha | 1,09 A | 0,69 B | 1,56 B | 1,79 B | 0,14 B |
| Azul | 1,22 A | 0,43 B | 2,89 A | 1,65 B | 0,24 A |
| Preta | 1,04 A | 1,21 B | 0,90 C | 2,26 A | 0,12 B |
| CV (%) | 12 | 8 | 24 | 8 | 7 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p <0,05).

O maior teor de clorofila *a* (1,22 mg g⁻¹ MF) foi observado nas folhas de plantas cultivadas sob malha azul, apesar de não diferir dos outros tratamentos estatisticamente. A clorofila *a* absorve intensamente radiação na região do azul e do vermelho (COOPS et al., 2003), o que poderia explicar o comportamento da espécie à malha azul que possui região de transmitância na faixa do azul e verde (400-540nm).

Em relação aos teores de clorofila *b* foi observado que a malha termorrefletora proporcionou maior concentração deste pigmento (1,28 mg g⁻¹ MF). O aumento da proporção de clorofila *b* em plantas sombreadas geralmente indica adaptabilidade do vegetal em ambientes sombreados (TAIZ; ZEIGER, 2004). De acordo com Engel e Poggiani (1991), maior concentração de clorofila *b* possibilita a captação de energia de outros comprimentos de onda e transferência para uma molécula específica de clorofila *a*, que efetivamente toma parte das reações fotoquímicas da fotossíntese. Os resultados do presente estudo corroboraram com os de Lima et al. (2011) que verificaram que plantas de *A. millefolium* submetidas à condições de baixas luminosidades continham maiores teores de clorofila *b*.

O teor de clorofila total foram maiores em plantas submetidas às malhas termorrefletora (2,36 mg g⁻¹ MF) e preta (2,26 mg g⁻¹ MF). A malha termorrefletora dispersa a radiação solar, aumentando em cerca de 15% a luz difusa, o que aumenta a disponibilidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos às plantas (OREN-SHAMIR, 2001). As maiores concentrações de clorofila *b* e total nesse ambiente pode ser devido a uma adaptabilidade da *A. millefolium* a um ambiente com maior proporção de luz difusa.

A malha azul contribuiu para uma maior razão clorofila *a/b*, pode-se dizer que a malha pode ter influenciado em maior biossíntese de clorofila *a* do que clorofila *b*. As malha preta e termorrefletora foram as que apresentaram menor razão de clorofila *a/b*. De acordo com Engel e Poggiani (1991) a

proporção entre clorofila *a* e *b* tende a diminuir com a redução da intensidade luminosa. Porém, os resultados do presente estudo demonstraram que mesmo usando malhas de mesma intensidade luminosa (50%), a qualidade espectral da luz também é um fator determinante para esse parâmetro.

Plantas cultivadas sob pleno sol apresentaram teores de clorofilas *a*, *b*, *a/b* e total estatisticamente similares com alguns ambientes sombreados, conforme observa-se na Tabela 5. As clorofilas são constantemente sintetizadas e destruídas (foto-oxidação) em presença de luz, mas sob intensidades luminosas mais elevadas a velocidade de decomposição é maior (ENGEL; POGGIANI, 1991; TAIZ; ZEIGER, 2004). Portanto, era de se esperar diferenças estatisticamente significativas entre os ambientes de radiação plena e sombreados, e esse fenômeno foi observado em *A. millefolium*. Alguns estudos relatam maiores teores de clorofilas em plantas sombreadas em relação às de pleno sol, evidenciando que a intensidade e a qualidade de radiação influenciam fortemente os teores de pigmentos cloroplastídicos (MARTINS et al., 2010; PINTO et al., 2007; SOUZA et al., 2010).

As plantas de *A. millefolium* submetidas à malha azul se destacaram quanto ao teor de carotenóide. Os carotenóides possuem ação fotoprotetora por meio da rápida dissipação dos estados excitados da clorofila (TAIZ; ZEIGER, 2004). De acordo com Oren-Shamir et al. (2001), a malha azul apresenta maior transmitância da luz na faixa do azul (400-500nm), podendo favorecer a absorção energética pelos carotenóides e, uma vez que estes estão associados às moléculas de clorofilas dos sistemas antenas e aos centros de reação, tem a capacidade de auxiliar o desempenho fotossintético por meio da transferência de energia absorvida para as clorofilas.

As variações observadas nos teores de pigmentos fotossintetizantes evidenciam uma adaptação da *A. millefolium* às modificações cromáticas e de intensidade luminosa, a fim de melhorar seu desempenho fotossintético.

3.3 Teores de carboidratos

O teor de açúcar solúvel total (AST) mostrou comportamento similar entre os tratamentos em ambas as partes da planta. Observou-se que plantas cultivadas sob pleno sol e malha preta apresentaram maiores médias de AST nas folhas e raiz em relação às malhas coloridas. Os teores de AST foram cerca de 10 vezes superiores nas raízes, aproximadamente, quando comparados às folhas em todos os tratamentos, exceto nas plantas sob malha preta, indicando que a espécie *A. millefolium* apresentou uma maior alocação de AST das folhas para a raiz. O teor de amido também acumulou maior quantidade na raiz do que nas folhas, ocorrendo diferenças significativas entre os tratamentos, sendo observado maior teor nas malhas preta, termorefletora e no cultivo a pleno sol (Tabela 6).

Tabela 6 Teor de açúcar solúvel total (AST) e amido na folha e raiz de plantas de *A. millefolium* submetidas a malhas coloridas e pleno sol. UFLA, Lavras, 2011

| Malhas | AST Folha | AST Raiz | Amido Folha | Amido Raiz |
|-------------------------|-----------|----------|-------------|------------|
| (mg g ⁻¹ MS) | | | | |
| Pleno sol | 3,99 A | 28,89 A | 0,65 A | 3,32 A |
| Preta | 4,00 A | 28,09 A | 0,50 B | 4,06 A |
| Vermelha | 2,61 B | 24,13 B | 0,48 B | 2,92 B |
| Azul | 2,44 B | 22,69 B | 0,33 C | 2,27 B |
| Termorrefletora | 2,31 B | 23,22 B | 0,34 C | 3,99 A |
| CV (%) | 7 | 10 | 8 | 18 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Nas plantas, a sacarose é o principal açúcar exportado dos locais de síntese (folhas) para as regiões de consumo (caule, gemas, raízes e órgãos reprodutivos) onde será utilizada para o crescimento e/ou armazenamento (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). A espécie *A.*

millefolium têm como características botânicas a propagação por estolões, este fato pode explicar a maior alocação de açúcares para a raiz, podendo favorecer o crescimento do rizoma e a brotação dos estolões.

A interpretação dos resultados sugere que a modificação do espectro de luz incidente sobre as plantas diminuiu a síntese de carboidratos nas folhas.

Segundo Mann (1987) os produtos do metabolismo primário irão fornecer moléculas que servirão como precursores nas principais rotas de síntese de metabólitos secundários, podendo influenciar no teor e na composição dos metabólitos secundários.

A síntese e alocação de açúcares podem variar de acordo com as condições ambientais e espécie estudada. Resultados obtidos por Carvalho et al. (2006) não corroboram com os dados encontrados em *A. millefolium* em relação à intensidade luminosa. Os autores notaram que o sombreamento à 30% e 50% em *Tanacetum parthenium* (artemísia) diminuiu os teores de açúcares e amido durante o desenvolvimento das plantas quando comparadas às plantas cultivadas a pleno sol.

3.4 Teor, rendimento e composição química do óleo essencial

O óleo essencial extraído das folhas de *A. millefolium* caracterizou-se por um óleo líquido com alta viscosidade e intensa coloração azul, com exceção das plantas cultivadas sob malha azul que apresentaram um óleo sólido e com coloração esverdeada.

Os resultados obtidos no presente trabalho não apresentaram diferença significativa entre as malhas no teor de óleo essencial na primeira colheita. Porém para a segunda colheita, as plantas cultivadas ao pleno sol foram superiores em relação às malhas. Comparando-se os teores entre a primeira e a

segunda colheita observou-se uma produção de óleo essencial cerca de 2 vezes superior na segunda colheita (Tabela 7).

Tabela 7 Teor e rendimento de óleo essencial de *A. millefolium* cultivadas sob diferentes malhas, na primeira e segunda colheitas. BSF: biomassa das folhas. UFLA, Lavras, 2011

| Malhas | 1ª colheita | | 2ª colheita | |
|------------------------|-------------------------------------|---|-------------------------------------|---|
| | Teor (g 100 g ⁻¹ BPA) | Rendimento (g planta ⁻¹) | Teor (g 100 g ⁻¹ BPA) | Rendimento (g planta ⁻¹) |
| Pleno sol | - | - | 0,121 A | 4,450 A |
| Termorrefletora | 0,026 A | 0,588 A | 0,053 C | 1,879 D |
| Vermelha | 0,037 A | 0,514 A | 0,094 B | 2,788 B |
| Azul | 0,036 A | 0,435 B | 0,059 C | 1,522 D |
| Preta | 0,040 A | 0,398 B | 0,087 B | 2,230 C |
| CV (%) | 26 | 19 | 12 | 14 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p <0,05).

Em relação ao rendimento de óleo essencial, houve diferenças entre os tratamentos da primeira e segunda colheita. O rendimento está ligado ao acúmulo de biomassa por planta. Na primeira colheita, as malhas termorrefletora e vermelha não diferiram entre si e foram as que produziram maior quantidade de biomassa em valor numérico, conseqüentemente contribuindo para apresentarem valores de rendimento superiores às malhas azul e preta. Este resultado já era esperado para a malha termorrefletora, visto que produziu maior quantidade de biomassa da parte aérea. Contudo, no cultivo sob malha vermelha foram observados altos rendimentos de óleo não somente em função ao acúmulo de biomassa, mas também devido a produção de elevado teor de óleo essencial, embora não tenha sido observado diferença estatística em relação às outras malhas.

Já na segunda colheita, o rendimento de óleo essencial foi maior nas plantas cultivadas à pleno sol, por apresentarem maior teor e acúmulo de

biomassa seca da parte aérea, com acréscimo no rendimento de cerca de 201,44% quando comparada à malha azul que obteve a menor média. Comparando-se os dados de rendimento entre a primeira e a segunda colheita foi observado que as malhas termorrefletora e azul produziram cerca de 3,3 vezes a mais e as malhas vermelha e preta em torno de 5,4 vezes a mais na segunda colheita. Curiosamente, na segunda colheita o rendimento de óleo essencial de plantas cultivadas sob a malha termorrefletora resultou em baixos teores e rendimentos de óleo essencial (Tabela 7).

Analisando os dados obtidos pode-se dizer que o cultivo a pleno sol é indicado, por apresentar características superiores às malhas coloridas e sombrite. Silva et al. (2006), estudando diferentes índices de luminosidade em *Baccharis trimera*, observaram aumento no teor e rendimento de óleo essencial com o aumento da intensidade da luz, corroborando assim com os resultados obtidos no experimento.

Porém outros estudos sobre o crescimento e teor de metabólitos secundários das plantas demonstraram que é variável o comportamento das espécies medicinais em resposta à qualidade e intensidade de luz. Pinto et al. (2007) estudando diferentes intensidades de luz na malha Aluminet® em *Aloysia gratissima* observaram que a espécie se adapta bem às condições de sombreamento parcial e proporcionou aumento de biomassa da parte aérea e rendimento de óleo essencial nas plantas cultivadas à pleno sol e a 40% de sombreamento. Brant et al. (2009), relataram que a espécie *Melissa officinalis* foi sensível à malha vermelha, afetando negativamente o teor e rendimento de óleo essencial. Porém, quando se analisou a qualidade do óleo essencial verificou-se que havia maior teor de citral, composto majoritário de maior interesse comercial em *Melissa officinalis*.

As análises químicas das amostras de óleo essencial de *A. millefolium* identificaram, em média, cerca de 96% dos constituintes presentes no óleo,

totalizando cerca de 50 constituintes químicos. Houve alterações significativas nos teores de monoterpenos totais entre a primeira e segunda colheitas. Na primeira colheita para os ambientes da malha preta, azul e vermelha os teores de monoterpenos foram em média de cerca de 1,90% e na malha termorrefletora foi de 8,35%.

Na segunda colheita ocorreu aumento nos teores de monoterpenos nas malhas preta (6,19%) e vermelha (5,20%) e diminuição na termorrefletora (3,66%). Os teores de monoterpenos totais na malha azul mantiveram-se constantes entre a primeira e segunda colheita. O teor mais expressivo de monoterpenos totais na primeira e segunda colheita foi no cultivo a pleno sol (8,41%) (Tabelas 8 e 9). Quanto aos teores de sesquiterpenos totais, tanto na primeira quanto na segunda colheita mantiveram-se em torno de 92%.

Houve variação qualitativas e quantitativas dos constituintes químicos do óleo essencial de *A. millefolium* entre os tratamentos e as épocas de colheita. Os constituintes majoritários diferiram entre as duas épocas, sendo na primeira colheita: o borneol (6,40%, apenas sob a malha termorrefletora), o β -cubebeno, o espatulenol, o *E*-nerolidol, o α -cadinol e o camazuleno. Já na segunda colheita houve maiores concentrações dos constituintes borneol, β -cubebeno, α -farneseno, espatulenol, *E*-nerolidol e camazuleno (Tabelas 8 e 9, Figuras 1 A e B).

Observou-se flutuações nos teores dos constituintes majoritários entre as malhas (Tabelas 9 e 10). Na primeira colheita, os resultados mais expressivos foram o maior teor de borneol (6,40%) e menores teores de β -cubebeno (3,75%) e camazuleno (19,90%) na malha termorrefletora. Já na segunda colheita, os ambientes de pleno sol e malhas preta e vermelha apresentaram maiores teores de β -cubebeno (12,47%, 12,81% e 18,24%, respectivamente), porém sob as malhas preta e vermelha os teores de camazuleno foram menores (36,78% e 33,91%, respectivamente).

O camazuleno é o constituinte responsável pela coloração azul do óleo essencial da *A. millefolium* e foi o que apresentou maior concentração entre os constituintes majoritários em ambas as colheitas. Na primeira colheita as plantas cultivadas sob malha vermelha tiveram maior teor do componente (35,20%) e na segunda colheita as plantas cultivadas sob malhas termorrefletora e azul apresentaram cerca de 46% de camazuleno no óleo essencial. Nota-se também que o teor do constituinte na segunda colheita foi superior comparado com àqueles da primeira colheita (Figura, 1).

O teor e a qualidade do óleo essencial de *A. millefolium* são influenciados por variações genética, climática, edáfica, ontogênica e anatômica (CHANDLER; HOOPER; HARVEY, 1982; ROHLOFF et al., 2000). Pesquisas abordando a composição do óleo essencial da espécie *A. millefolium* têm sido realizadas em diversos países (GUDAITYT; VENSKUTONIS, 2007; SHAWL et al., 2002), porém nenhum estudo verificou a influência da intensidade e da qualidade luminosa no desempenho da espécie. Alguns dos constituintes majoritários encontrados na espécie são α -pineno, β -pineno, β -cariofileno, 1,8-cineol, α -feladreno, camazuleno, β -mirceno, canfora e *E*-nerolidol (GUDAITYT; VENSKUTONIS, 2007).

Poucos também são os estudos abordando a qualidade da luz na produção de óleo essencial em espécies medicinais. Estudo realizado por Brant et al. (2008) revelam que a espécie *Melissa officinalis* exibiu diferenças no teor e na composição química do óleo essencial quando cultivadas sob malha vermelha, comparando com as malhas azul, preta e à pleno sol.

Tabela 8 Análise química do óleo essencial da primeira colheita de plantas de *A. millefolium* cultivadas sob malhas coloridas, UFLA, 2011

| Tratamento | | | Malhas coloridas | | | | | | | | |
|--------------|---------------------------------|----------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | | Preta | | Vermelha | | Azul | | Aluminet | | Pleno sol |
| | | | 1 ^a | 2 ^a | 1 ^a | 2 ^a | 1 ^a | 2 ^a | 1 ^a | 2 ^a | 2 ^a |
| Constituinte | IR* | Colheita | | Colheita | | Colheita | | Colheita | | Colheita | |
| 1 | γ -terpineno | 1059 | nd | 0,26 | nd | 0,15 | nd | nd | nd | nd | 0,31 |
| 2 | nonanal | 1093 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0,78 | nd | nd |
| 3 | borneol | 1152 | 1,44 | 4,02 | 1,05 | 3,41 | 2,39 | 1,61 | 6,40 | 2,67 | 5,66 |
| 4 | α -terpineol | 1163 | nd | 0,75 | nd | 0,60 | nd | 0,23 | nd | 0,19 | 1,16 |
| 5 | terpinen-4-ol | 1178 | 0,47 | 1,16 | 0,37 | 1,04 | nd | 0,54 | 1,18 | 0,79 | 1,28 |
| 6 | Z-cariofileno | 1409 | 0,76 | 2,68 | 0,86 | 2,83 | 1,43 | 1,86 | 1,40 | 1,78 | 3,22 |
| 7 | aromadendreno | 1442 | nd | 0,54 | nd | 0,56 | nd | 0,40 | nd | 0,40 | 0,60 |
| 8 | β -cubebeno | 1470 | 8,36 | 12,81 | 7,91 | 18,24 | 7,72 | 7,61 | 3,75 | 4,97 | 12,47 |
| 9 | β -ionona | 1476 | 0,31 | 0,20 | 0,24 | 0,19 | nd | 0,19 | nd | 0,25 | 0,18 |
| 10 | germacreno D | 1485 | 0,76 | 1,05 | 0,76 | 1,50 | nd | 0,74 | nd | 0,51 | 0,92 |
| 11 | α -farneseno | 1498 | 3,04 | 3,74 | 3,09 | 5,61 | 2,97 | 2,32 | 1,83 | 1,63 | 2,70 |
| 12 | cubebol | 1511 | nd | 0,32 | nd | 0,39 | nd | 0,25 | nd | nd | 0,28 |
| 13 | δ -cadineno | 1513 | 0,34 | 0,17 | 0,23 | 0,18 | nd | 0,18 | nd | nd | 0,21 |
| 14 | δ -cadineno | 1524 | 0,28 | 0,60 | 0,29 | 0,52 | nd | 0,59 | nd | 0,54 | 0,30 |
| 15 | cis-nerolidol | 1540 | 0,71 | 0,69 | 0,57 | 0,45 | 1,35 | 0,78 | 1,03 | 0,77 | 0,53 |
| 16 | α -calacoreno | 1543 | nd | 0,49 | nd | 0,39 | nd | 0,42 | nd | 0,46 | 0,21 |
| 17 | óxido de aromadendreno | 1550 | 2,23 | 3,13 | 2,39 | 2,69 | 0,41 | 3,64 | 1,33 | 2,50 | 2,74 |
| 18 | cis-muurool-5-en-4- β -ol | 1551 | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 1,11 | nd | Nd |
| 19 | espatulenol | 1561 | 5,18 | 4,10 | 4,80 | 3,69 | 7,72 | 4,56 | 6,17 | 4,43 | 3,24 |
| 20 | E-nerolidol | 1566 | 2,06 | 2,60 | 1,99 | 2,38 | 3,53 | 2,92 | 2,91 | 3,65 | 3,78 |
| 21 | álcool de cariofilenila | 1571 | 0,29 | 0,34 | 0,37 | 0,30 | nd | 0,39 | nd | 0,32 | 0,43 |
| 22 | hidrato de sesquisabineno | 1574 | 0,32 | 0,13 | 0,29 | 0,16 | nd | 0,20 | nd | nd | 0,30 |
| 23 | óxido de cariofileno | 1576 | 0,78 | 1,08 | 0,90 | 0,80 | 1,57 | 1,24 | 1,47 | 1,61 | 0,99 |
| 24 | globulol | 1588 | 0,36 | 0,20 | 0,37 | 0,18 | nd | 0,21 | nd | nd | 0,19 |
| 25 | β -copaen-4-ol | 1590 | 0,77 | 0,60 | 0,75 | 0,44 | nd | 0,65 | 1,24 | 1,09 | 0,62 |
| 26 | viridiflorol | 1594 | 1,37 | 0,62 | 1,61 | 0,65 | 1,98 | 0,71 | 1,67 | 0,73 | 0,61 |
| 27 | ledol | 1604 | 0,62 | 0,36 | 0,49 | 0,32 | nd | 0,40 | nd | 0,40 | 0,30 |

“Tabela 8, conclusão”

| | | | | | | | | | | | |
|----|---|------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 28 | epoxido de humuleno | 1606 | 1,39 | nd | 0,87 | 0,19 | nd | nd | nd | nd | Nd |
| 29 | óxido de β -himachaleno | 1618 | 0,90 | nd | 0,67 | nd | nd | nd | nd | nd | 0,12 |
| 30 | cubenol | 1621 | nd | 0,41 | nd | nd | nd | 0,37 | 1,117 | 0,20 | 0,25 |
| 31 | 10-epi- γ -eudesmol | 1625 | 1,55 | 0,97 | 1,44 | 1,44 | 2,24 | 1,08 | 1,63 | 0,75 | 0,82 |
| 32 | 1-epi-cubenol | 1630 | 1,57 | 0,76 | 1,41 | 0,75 | 2,50 | 0,80 | 1,75 | 0,73 | 0,56 |
| 33 | g-eudesmol | 1633 | nd | 0,34 | 0,74 | 0,34 | nd | 0,39 | 1 | 0,39 | 0,26 |
| 34 | α/β -cariofila-4(14), 8(15)-dien-5-ol | 1637 | 2,25 | 2,14 | 2,01 | 1,06 | 6,06 | 2,30 | 4,13 | 2,20 | 0,98 |
| 35 | t-muurolol | 1639 | 1,68 | 0,23 | 1,78 | 1,00 | nd | nd | nd | 0,48 | 0,72 |
| 36 | óxido de α -bisabolol B | 1648 | 1,48 | 0,27 | 0,88 | 0,33 | nd | 0,35 | 1,01 | 0,38 | 0,28 |
| 37 | β -eudesmol | 1652 | 0,80 | 0,28 | 0,57 | 0,23 | nd | 0,27 | nd | 0,35 | 0,19 |
| 38 | selin-11-en-4- α -ol | 1657 | 0,70 | 0,17 | nd | 0,33 | nd | nd | nd | nd | 0,15 |
| 39 | 14-hidroxi-9-epi- β -cariofileno | 1668 | 1,80 | 0,52 | 1,23 | 0,76 | 2,37 | 1,03 | 1,09 | 1,46 | 0,39 |
| 40 | α -cadinol | 1676 | 4,98 | 1,57 | 3,24 | 2,10 | 4,70 | 1,56 | 3,10 | 1,67 | 1,95 |
| 41 | α -bisabolol | 1683 | 0,74 | 0,57 | nd | nd | nd | 0,71 | nd | 0,76 | nd |
| 42 | 2Z,6Z-farnesol | 1701 | 1,34 | 0,67 | 0,99 | 0,56 | 1,84 | 0,85 | 2,32 | 1,00 | 0,55 |
| 43 | camazuleno | 1734 | 28,67 | 36,78 | 35,20 | 33,91 | 26,03 | 46,12 | 19,90 | 46,88 | 41,00 |
| 44 | 14-hidroxi- α -muuroloeno | 1779 | 2,05 | 1,60 | 1,42 | 1,17 | 3,98 | 1,71 | 4,23 | 1,56 | 1,05 |
| 45 | acetato de β -eudesmol | 1791 | 1,48 | 1,55 | 1,11 | 1,10 | 2,86 | 2,35 | 3,84 | 1,98 | 1,18 |
| 46 | acetato de α -bisabolol | 1800 | 7,21 | 1,48 | 9,01 | 1,12 | 9,28 | nd | 10,17 | 1,98 | 1,25 |
| 47 | óxido de isolongifolol | 1816 | 0,71 | 0,52 | 0,48 | 0,35 | nd | 0,59 | 1,59 | 0,47 | 0,31 |
| 48 | 2E,6E-acetato de farnesil | 1849 | 0,72 | 0,42 | 0,40 | 0,31 | nd | 0,43 | 1,37 | 0,53 | 0,24 |
| 49 | Z,Z-farnesil acetona | 1857 | 1,76 | 0,92 | 0,88 | 0,80 | 1,75 | 0,77 | 1,66 | 0,77 | 0,65 |
| 50 | hexahidro-farnesilacetona | 1905 | 1,06 | 0,29 | 0,66 | 0,22 | 2,55 | 0,40 | 2,79 | 0,61 | 0,20 |
| | Total de monoterpenos | | 1,91 | 6,19 | 1,42 | 5,20 | 2,39 | 2,39 | 8,35 | 3,66 | 8,41 |
| | Total de sesquiterpenos | | 93,38 | 88,90 | 92,89 | 90,55 | 94,83 | 92,31 | 86,57 | 91,18 | 87,93 |
| | TOTAL | | 95,29 | 95,09 | 94,31 | 95,75 | 97,22 | 94,69 | 94,93 | 94,84 | 96,34 |

Tabela 9 Constituintes majoritários do óleo essencial de plantas de *Achillea millefolium* L. na primeira colheita, UFLA, Lavras, 2011

| Constituinte | IR | Preta | Vermelha | Azul | Aluminet |
|-------------------------------------|-----------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|
| Borneol | 1152 | – | – | – | 6,40 |
| β-cubebeno | 1470 | 8,36 | 7,91 | 7,72 | – |
| Espatulenol | 1561 | 5,18 | – | 7,72 | 6,17 |
| α/β-cariofila-4(14),8(15)-dien-5-ol | 1637 | – | – | 6,06 | – |
| Camazuleno | 1734 | 28,67 | 35,198 | 26,025 | 19,896 |
| acetato de α-bisabolol | 1800 | 7,207 | 9,014 | 9,276 | 10,167 |
| TOTAL | | 49,411 | 52,122 | 56,797 | 42,632 |

Valores de porcentagem de área relativa <5.00%

Tabela 10 Constituintes majoritários do óleo essencial de plantas de *Achillea millefolium* L. na segunda colheita, UFLA, Lavras, 2011

| Constituinte | IR | Pleno sol | Preta | Vermelha | Azul | Aluminet |
|------------------------|-----------|------------------|--------------|-----------------|--------------|-----------------|
| Borneol | 1152 | 5,66 | 4,02 | 3,41 | 1,61 | 2,67 |
| Z-cariofileno | 1409 | 3,22 | 2,68 | 2,83 | 1,86 | 1,78 |
| β-cubebeno | 1470 | 12,47 | 12,81 | 18,24 | 7,61 | 4,97 |
| α-farneseno | 1498 | 2,70 | 3,74 | 5,61 | 2,32 | 1,63 |
| óxido de aromadendreno | 1550 | 2,74 | 3,13 | 2,69 | 3,64 | 2,50 |
| Espatulenol | 1561 | 3,24 | 4,10 | 3,69 | 4,56 | 4,43 |
| E-nerolidol | 1566 | 3,78 | 2,60 | 2,38 | 2,92 | 3,65 |
| Camazuleno | 1734 | 41,00 | 36,78 | 33,91 | 46,12 | 46,88 |
| TOTAL | | 74,82 | 69,86 | 72,75 | 70,63 | |

Valores de porcentagem de área relativa <5.00%

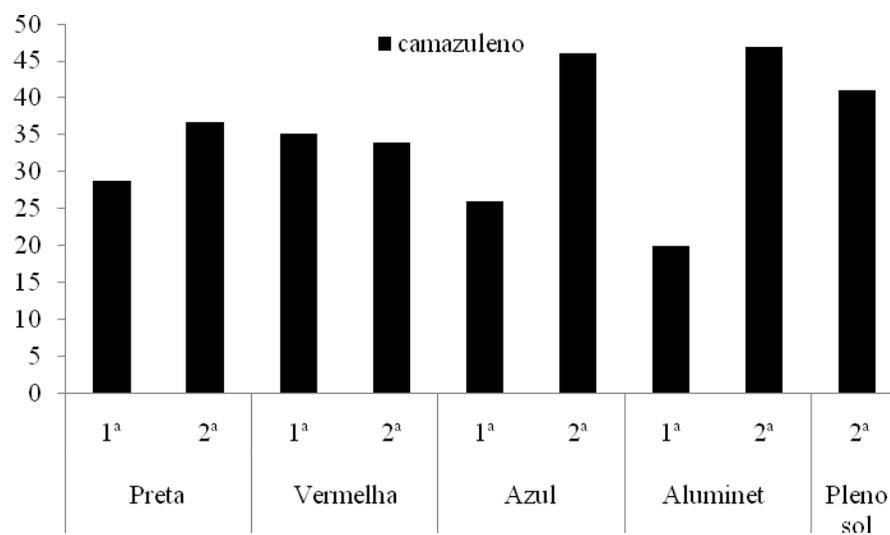


Gráfico 1 Porcentagem de área relativa do pico referente ao camazuleno no óleo essencial de *Achillea millefolium* L. na primeira e segunda colheita, UFLA, Lavras, 2011

4 CONCLUSÕES

O cultivo da *A. millefolium* L. é favorecido pelo tratamento a pleno sol, já que, associa o acúmulo de biomassa, teor e rendimento de óleo essencial.

Os teores de pigmentos fotossintetizantes e de carboidratos são fortemente influenciados pela qualidade de luz incidente.

Houve diferenças na composição química dos constituintes químicos do óleo essencial entre os tratamentos nas duas colheitas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4th ed. Illinois: Allured, 2007. 804 p.
- AFREEN, F.; ZOBAYED, S. M. A.; KOZAI, T. Spectral quality and UV-B stress stimulate glycyrrhizin concentration of *Glycyrrhiza uralensis* in hydroponic and pot system. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 43, n. 12, p. 1074-1081, Dec. 2005.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1074-1075, Jan. 1949.
- BRANT, R. S. et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1401-1407, ago. 2009.
- CARVALHO, L. M. et al. Crescimento e metabolismo em artemísia em função do nível de irradiância. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 289-294, set. 2006.
- CHAGAS, J. H. et al. Produção de biomassa seca em plantas de *Mentha arvensis* L. cultivada sob malhas fotoconversoras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 50., 2010, Guarapari. **Anais...** Guarapari: ABH, 2010. p. 3422-3427.
- CHANDLER, R. F.; HOOPER, S. N.; HARVEY, M. J. Ethnobotany and phytochemistry of yarrow *Achillea millefolium*, Compositae. **Economic Botany**, New York, v. 36, n. 2, p. 203-223, June 1982.
- CHANG, X.; ALDERSON, P. G.; WRIGHT, C. J. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 1/3, n. 63, p. 216-223, May 2008.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 199-204, jun. 2001.

COOPS, N. C. et al. Chlorophyll content in eucalypt vegetation at the leaf and canopy scales as derived from high resolution spectral data. **Tree Physiology**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 23-31, Jan. 2003.

CORRÊA, R. M. **Adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz no crescimento de plantas, características anatômicas e composição química do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.)**. 2008. 131 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

COSTA, L. C. B. et al. Effects of coloured shade netting on the vegetative development and leaf structure of *Ocimum selloi*. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 2, p. 349-359, 2010a.

_____. Yield and composition of the essential oil of *Ocimum selloi* Benth. cultivated under colored netting. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 22, n. 1, p. 34-39, Jan. 2010b.

DISCHE, Z. Color reactions of carbohydrates. In: WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. (Org.). **Methods in carbohydrate chemistry**. New York: Academic, 1962. p. 477-480.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 39-45, jan./mar. 1991.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 5.0 sistema de análise estatística**. Lavras: UFPA, 2007. Software.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Composition of the essential oil from cell suspension cultures of *Achillea millefolium* ssp. *millefolium*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 40, n. 2, p. 113-118, Mar. 1995.

GUDAITYTE, O.; VENSKUTONIS, P. R. Chemotypes of *Achillea millefolium* transferred from 14 different locations in Lithuania to the controlled environment. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 35, n. 9, p. 582-592, Sept. 2007.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Base meterológica de Lavras** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <elzinhaufmg@yahoo.com.br> em 10 nov. 2010.

KOTAN, R. et al. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 90, n. 1, p. 145-160, Jan. 2010.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. et al. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**. Davis: J. Wiley, 2001. p. 4.3.1-4.3.8.

LIMA, M. C. et al. Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio em mil-folhas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 45-50, jan. 2011.

MANN, J. **Secondary metabolism**. Oxford: Oxford Science, 1987. 374 p.

MARTINS, J. R. et al. Teores de pigmentos fotossintéticos e estrutura de cloroplastos de Alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 1, p. 64-69, jan. 2010.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH mass spectral library**. Gaithersburg, 2008. Software.

OLIVEIRA, J. R. et al. **Cultivos agrícolas utilizando telas coloridas e termorefletores**. Disponível em: <http://www.cefetbambui.edu.br/str/artigos_aprovados/Ci%C3%A4ncias%20Agrarias/34-PT-6.pdf>. Acesso em: 5 jan. 2011.

OREN-SHAMIR, M. et al. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, Mar. 2001.

PINTO, J. E. B. P. et al. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 210-214, abr. 2007.

POLYSACK INDÚSTRIAS LTDA. **Malhas termorefloras aluminizadas**. Disponível em: <<http://www.polysack.com/files/fc42f05f6%20bab9497f30102%20a306073755.pdf>>. Acesso em: 6 nov. 2008.

ROHLOFF, J. et al. Production of yarrow (*Achillea millefolium* L.) in Norway: essential oil content and quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 12, p. 6205-6209, Dec. 2000.

SHAHAK, Y. Photo-selective netting for improved performance of horticultural crops: a review of ornamental and vegetable studies carried out in Israel. **Acta Horticulture**, Amsterdam, n. 770, p. 161-168, 2008.

SHAHAK, Y. et al. Color-Nets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulture**, Amsterdam, n. 659, p. 143-151, 2004.

SHAWL, A. S. et al. Essential oil composition of *Achillea millefolium*. **Flavour and Fragrance Journal**, Malden, v. 17, n. 1, p. 165-168, Jan. 2002.

SILVA, F. G. et al. Influence of radiation level on plant growth, yield and quality of essential oil in carqueja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 52-57, jan./fev. 2006.

SOUZA, G. S. et al. Características biométricas e fisiológicas de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 4, p. 330-335, out. 2010.

SUÁREZ, N. **Ensaio de observação de comportamento da tela termo-refletores Aluminet 50% em tomate embaixo de estufas**. Disponível em: <<http://www.polysack.com/files/ae870a41b9b2244cdbc5315499f6c7eb.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TSORMPATSIDIS, E. et al. UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in Lollo Rosso lettuce 'Revolution' grown under polyethylene films. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 232-239, Jan. 2008.

ARTIGO 2

**ADUBAÇÃO ORGÂNICA NO CRESCIMENTO, TEOR, RENDIMENTO
E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Achillea*
millefolium L.**

**Elza de Oliveira Ferraz¹; Suzan Kelly Vilela Bertolucci¹; José
Eduardo Brasil Pereira Pinto¹; Aurislaine Ribeiro Santos¹; Helbert
Rezende de Oliveira Silveira¹**

¹Setor de Plantas Mediciniais, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de
Lavras, Caixa Postal 3037, Lavras-MG, CEP 37200-000
E-mail: elza.o.ferraz@hotmail.com

Preparado de acordo com a Norma NBR 6022:2003

RESUMO

Objetivou-se com esse estudo avaliar os efeitos de diferentes dosagens de adubação orgânica (esterco bovino e avícola) em *Achillea millefolium* L. no crescimento vegetativo, teor e composição química do óleo essencial. Para o esterco bovino avaliou-se as doses: 1) Solo sem adubação; 2) solo + 3,0 kg m⁻²; 3) solo + 6,0 kg m⁻²; 4) solo + 9,0 kg m⁻²; 5) solo + 12,0 kg m⁻². Já na adubação com esterco avícola utilizaram-se as seguintes doses: 1) solo sem adubação; 2) solo + 1,5 kg m⁻²; 3) solo + 3,0 kg m⁻²; 4) solo + 4,5 kg m⁻² e 5) solo + 6,0 kg m⁻². O delineamento experimental utilizado foi o DIC com quatro repetições por tratamento e quatro plantas por parcela experimental. A colheita ocorreu aos 110 dias e avaliaram-se as biomassas secas da parte aérea e raiz, relação raiz: parte aérea, teor, rendimento e composição química do óleo essencial. Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão. O estudo evidenciou que *A. millefolium* responde com maior intensidade a adubação com esterco avícola que com a bovina, onde a dose máxima avaliada no estudo (6 kg m⁻²) apresentou o maior acúmulo de biomassa seca da parte aérea (36 g planta⁻¹) e maior rendimento de óleo essencial (0,025 g planta⁻¹). Independente da adubação ou não das plantas, o óleo essencial da *A. millefolium* é constituído majoritariamente por camazuleno, mas tanto as fontes quanto as doses não interferiram expressivamente na composição e concentração dos constituintes químicos do óleo.

Palavras-chave: Planta medicinal. Fertilização orgânica. Metabólitos secundários.

ORGANIC FERTILIZATION ON GROWTH, CONTENT, YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *Achillea millefolium* L

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of different doses of organic manure (cattle and chicken manure) in *Achillea millefolium* L. in vegetative growth, content and chemical composition of essential oil. Cattle manure doses were evaluated: 1) soil without fertilization, 2) soil 3.0 kg m⁻², 3) soil 6.0 kg m⁻², 4) soil 9.0 kg m⁻², 5) soil 12.0 kg m⁻². Chicken manure fertilization used the following doses: 1) soil without fertilization, 2) soil 1.5 kg m⁻², 3) soil 3.0 kg m⁻², 4) soil 4.5 kgm⁻² and 5) soil 6.0 kg m⁻². The experimental design was a complete random design with four replicate and four plants per plot. The harvest occurred 110 days later and evaluated the total dry biomass of shoot and root, the root: air content, yield and chemical composition of essential oil. Data were subjected to analysis of variance and regression. The study showed that *A. millefolium* responds more positively to fertilization with poultry manure than with the cattle, where the maximum dose evaluated in the study (6 kg m⁻²) showed the greatest accumulation of shoot dry biomass (36 g plant⁻¹) and higher yield essential oil (0.025 g plant⁻¹). Whether or not fertilizing the plants, essential oil of *A. millefolium* consists mainly of chamazulene, but both sources and doses did not interfere significantly in composition and concentration of the chemical constituents of the oil.

Keywords: Medicinal plants. Organic fertilization. Secondary metabolites.

1 INTRODUÇÃO

Achillea millefolium L. (Asteraceae) é conhecida popularmente como mil-folhas, erva-carpinteiro, aquiléia e pronto-alívio (PEROZIN; FRANCISCO, 1990). É uma planta medicinal, conhecida por sua ação anti-inflamatória, antimicrobiana, antisséptica, cicatrizante, hepática e tônica. É uma espécie que cresce espontaneamente nas Ilhas Britânicas, sudeste da Europa, Ásia, Austrália e América do Norte (AFSHARYPUOR; ASGARY; LOCKWOOD, 1996). Apesar de ser originária de regiões temperadas, a espécie se adaptou bem às condições climáticas do Brasil, porém, os estudos que visam a produtividade vegetal, o teor, o rendimento e a composição química do óleo essencial são incipientes.

A adubação orgânica favorece o cultivo de plantas medicinais, pois fornece nutrientes para as plantas, proporciona benefícios na estrutura física do solo, aumenta a retenção de água, diminui as perdas por erosão e favorece o controle biológico de pragas e doenças (COSTA, 2008). A utilização de adubos orgânicos de origem animal é uma prática útil e econômica, além de favorecer a melhoria da fertilidade e conservação do solo. O esterco bovino é uma das fontes de adubo orgânico mais utilizadas, devido às suas características químicas e biológicas e por ser muitas vezes de fácil acesso em propriedades agrícolas. Já o esterco avícola é uma opção interessante onde a atividade avícola se faz presente (AMARAL et al., 2008).

O fertilizante orgânico por melhorar as condições edáficas do solo pode contribuir positiva ou negativamente à produção de biomassa e princípios ativos dependendo da espécie (CORRÊA et al., 2010).

Estudos vêm sendo realizados a fim de conhecer os efeitos da adubação orgânica na produtividade e síntese de metabólitos secundários de várias espécies medicinais (BRANT et al., 2009; CORRÊA et al., 2010; COSTA et al.,

2008; SANTOS et al., 2009). Costa et al. (2008) demonstraram que a produção de matéria seca de *Cymbopogon citratus* D.C (capim-limão) adubadas com esterco avícola tiveram melhor desenvolvimento vegetativo, maior número de perfilhos e maior rendimento de óleo essencial quando comparada a adubação com esterco bovino. Maior produtividade inferiu em maior rendimento de óleo essencial. Santos et al. (2009), relataram que a interação esterco bovino e biofertilizante foi favorável ao crescimento e desenvolvimento de *Melissa officinalis* L. (erva cidreira verdadeira).

Corrêa et al. (2010) verificaram para *Origanum vulgare* L. (orégano) que as doses de 10,1 kg m⁻² e 3,86 kg m⁻² de esterco bovino e avícola, respectivamente, promoveram maior disponibilidade de nutrientes para as plantas implicando em maior produção de biomassa da parte aérea. Quanto ao óleo essencial, os adubos afetaram positivamente o teor e o rendimento do óleo de *O. vulgare* embora, tenha afetado negativamente o teor de timol. A adubação orgânica em *Aloysia triphylla* Britton. (cidrão) evidenciou melhor desenvolvimento das plantas quando doses crescentes de esterco bovino foram adicionadas ao solo, porém, para o teor de óleo essencial a dose de 9 kg m⁻² foi a recomendada para o manejo da espécie (BRANT et al., 2009), demonstrando a importância da avaliação das doses de adubação que associam a produção vegetal e a de metabólitos secundários.

A adubação é considerada como um dos principais fatores a avaliar no processo de domesticação e cultivo de espécies medicinais, mas pouco se sabe a respeito das necessidades de nutrição da espécie *A. millefolium*. A única publicação indexada encontrada na literatura sobre adubação em *A. millefolium* foi a de Sheffer, Ronzelli Junior e Koehler (1993). Nesse estudo, os autores avaliaram a aplicação de diferentes doses de esterco bovino + palha no acúmulo de biomassa, rendimento e composição química do óleo essencial e observaram que a planta respondeu positivamente a adubação orgânica.

Portanto, em virtude das incipientes informações sobre a produção de biomassa e do óleo essencial de *A. millefolium* em resposta a adubação orgânica, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes doses de esterco bovino e avícola na produção de biomassa, teor, rendimento e composição química do óleo de *A. millefolium* L.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Identificação botânica da espécie

Exsicatas de *A. millefolium* foram herborizadas e depositadas no herbário do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sob o registro ICN 187014.

2.2 Caracterização do local

O ensaio foi conduzindo em casa de vegetação no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), situada nas coordenadas geográficas 21^o 14' S e 45^o 00' W, a 918 m de altitude.

2.3 Preparo das mudas e transplântio

As mudas do material vegetal originaram-se de plantas matrizes de *Achillea millefolium* L. pertencentes ao Horto Medicinal do Departamento de Agricultura da UFLA (DAG/UFLA).

As mudas foram obtidas por propagação de rizomas utilizando estacas com cerca de 3 cm de comprimento, as quais foram enraizadas em bandejas de poliestireno expandido de 72 células utilizando-se substrato comercial (Plantmax[®]). As mudas foram mantidas em casa de vegetação com 60% de sombreamento, umidade relativa de 75% e temperatura média de 26 ± 2°C. As mudas aclimatizadas foram então, transplantadas para vasos plásticos de 10 litros de capacidade, contendo terra (latossolo vermelho escuro) e adubo orgânico em dois ensaios distintos. Os tratamentos de adubação orgânica foram:

Ensaio I: (esterco bovino - EB): 1- solo sem adubação; 2- solo + 3,0 kg m⁻² de EB; 3) - solo + 6,0 kg m⁻² de EB; 4- solo + 9,0 kg m⁻² de EB; 5- solo + 12,0 kg m⁻² de EB; Ensaio II: (esterco de avícola - EA): 1- solo sem adubação; 2- solo + 1,5 kg m⁻² de EA; 3- solo + 3,0 kg m⁻² de EA; 4- solo + 4,5 kg m⁻² de EA e 5- solo + 6,0 kg m⁻² de EA. O solo sem adubação foi constituído apenas de terra.

A terra e o adubo empregados no experimento foram analisados pelo Laboratório de Análise de Solos, Departamento de Ciência do Solo da UFLA (DCS/UFLA) e estão relacionadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 Análise química do solo utilizado no experimento com plantas de *Achillea millefolium* L., UFLA, Lavras, 2011

| Amostra | pH | P | K | Ca | Mg | Al | H ⁺ Al | SB | t | T | V | M | MO | P-rem |
|---------|------------------|---------------------|----|-----|------------------------------------|----|----------------------|-----|-----|-----|------|-------------------------|-----------------------|-------|
| | H ₂ O | mg dm ⁻³ | | | cmol _c dm ⁻³ | | | | | | % | dag kg ⁻¹ | mg L ⁻¹ | |
| Terra | 5,6 | 0,6 | 14 | 0,5 | 0,1 | 0 | 2,1 | 0,6 | 0,6 | 2,7 | 23,4 | 0 | 1,4 | 4,1 |

Tabela 2 Análise química do esterco bovino utilizado no experimento com plantas de *Achillea millefolium* L., UFLA, Lavras, 2011

| Material | N | P | K | Na | Ca | Mg | S | B | Cu | Fe | Mn | Zn |
|----------|--------------------|------|------|-----|------|-----|---------------------|------|------|----------|-------|-------|
| | g kg ⁻¹ | | | | | | mg kg ⁻¹ | | | | | |
| EA | 21,0 | 20,0 | 7,3 | 2,2 | 46,0 | 2,8 | 3,1 | 17,0 | 74,0 | 4.601,0 | 315,0 | 314,0 |
| EB | 18,0 | 5,1 | 13,0 | 1,5 | 4,1 | 3,2 | 2,6 | 5,6 | 39 | 12.848,0 | 461,0 | 150,0 |

2.4 Condução do experimento

O experimento foi conduzido durante o período de 23 de fevereiro a 23 de junho de 2010. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições e quatro plantas por parcela.

2.5 Análise de biomassa

Após 110 dias do plantio, as plantas foram colhidas, separadas em partes aérea e raiz e secas em estufa com circulação forçada de ar à $38 \pm 1^\circ\text{C}$, até peso constante. As biomassas foram então mensuradas em balança analítica, com precisão de 0,01 mg. O crescimento das plantas foi determinado pelo acúmulo de biomassa seca das folhas (BPA, g planta⁻¹), raiz (BSR, g planta⁻¹) e relação raiz/parte aérea (R/PA).

2.6 Extração e análises do óleo essencial

Antes da extração do óleo essencial a umidade residual do material vegetal seco foi determinada por radiação no infravermelho, utilizando uma balança MB45 Ohaus®, com secagem programada para 105°C por 5 min. Os resultados foram expressos em perda percentual de umidade em massa através da média de três determinações, utilizando 1g das folhas de *A. millefolium* em cada determinação e os valores obtidos empregados nos cálculos dos teores e rendimentos de óleo essencial.

A extração do óleo essencial de *A. millefolium* foi realizada pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, utilizando-se 40 g de biomassa seca das folhas (BPA), em 500 mL de água destilada por um período de 90 min, quatro repetições por tratamento, utilizando um delineamento experimental inteiramente casualizado. O óleo essencial foi purificado por partição líquido-líquido com diclorometano (3×15 mL). A fase orgânica foi reunida e tratada com cerca de 5 g de sulfato de magnésio anidro durante 30 min. Após esse período a solução foi filtrada e o solvente evaporado a temperatura ambiente, sob capela de exaustão de gases. Foram determinados o

teor ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ BPA) e o rendimento (g planta^{-1}) do óleo essencial na base seca das folhas.

A análise da composição química do óleo essencial das folhas de *A. millefolium* foi realizada no Laboratório de Fitoquímica do Setor de Plantas Medicinais do DAG/UFLA. Para essas análises utilizou-se uma amostra composta, compreendida da reunião de alíquotas contidas por massas equivalentes do óleo essencial das repetições de cada tratamento.

As análises quantitativas do óleo foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplado a um detector de ionização de chama de hidrogênio (CG-DIC) em um sistema Agilent® 7890A equipado com coluna capilar de sílica fundida HP-5 (30 m de comprimento \times 0,25 mm de diâmetro interno \times 0,25 μm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). Utilizou-se hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min; as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 220 °C e 240 °C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60 °C com uma rampa de temperatura de 3° C/min até 150 °C, seguido por uma isoterma de 10 min e, posteriormente, de uma rampa de 10 °C/min até 270 °C. O óleo foi diluído em acetato de etila (1%, v/v) e injetado automaticamente no cromatógrafo empregando volume de injeção de 1,0 μL , no modo *split* a uma razão de injeção de 1:50.

As análises qualitativas do óleo foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando-se um equipamento Agilent® 5975C, operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scan/s, com um intervalo de aquisição de massas de 40-400 m/z . As condições cromatográficas foram as mesmas empregadas nas análises quantitativas.

Os componentes foram identificados por comparação de seus índices de retenção calculados (IK_c) com dados de espectros de massas e índices de retenção (IK) de literaturas (ADAMS, 2007; KOTAN et al., 2010) e por

comparação dos espectros de massas com o banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY - NIST, 2008). Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados utilizando uma curva de calibração de uma série de *n*-alcanos, C₈-C₂₀ (SIGMA CHEMICAL CO.; ST. LOUIS, MO) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras. A concentração dos constituintes foi calculada através da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra, obtida pela análise no CG-DIC.

Foram considerados constituintes majoritários os quatro constituintes que apresentaram entre os tratamentos as maiores porcentagens relativa de área dos picos.

2.7 Análise estatística

As variáveis foram avaliadas pela análise de regressão à 5% de probabilidade, empregando o programa estatístico SISVAR[®] (FERREIRA, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Biomassa seca

Analisando os resultados obtidos foi observado que as plantas de *A. millefolium* responderam expressivamente a adubação orgânica, pois em ambos os ensaios as plantas sem adubação apresentaram reduzido desenvolvimento em relação às plantas adubadas (Figura, 1).

Verificou-se que houve efeito significativo dos níveis de adubação do esterco bovino e avícola, os quais apresentaram um comportamento linear crescente para a biomassa da parte aérea (BPA) e quadrático para biomassa seca da raiz (BSR) (Gráfico 1). A reta de BPA da adubação com esterco avícola teve maior ângulo de inclinação maior do que a reta de BPA do esterco bovino. Este fato evidencia que o acúmulo de BPA de *A. millefolium* foi maior na adubação com esterco avícola com uma produção máxima de 36 g planta⁻¹ na dose de 6 kg m⁻² contra 25 g planta⁻¹ na dose de 12 kg m⁻² de esterco bovino. Esse resultado indicou que o ganho de BPA no esterco avícola foi 30,5% superior ao bovino.

Quanto a BSR o ponto máximo de acúmulo foi de 35 g planta⁻¹ na dose de 6 kg m⁻² de esterco avícola e 28 g planta⁻¹ na dose de 12 kg m⁻² de esterco bovino.

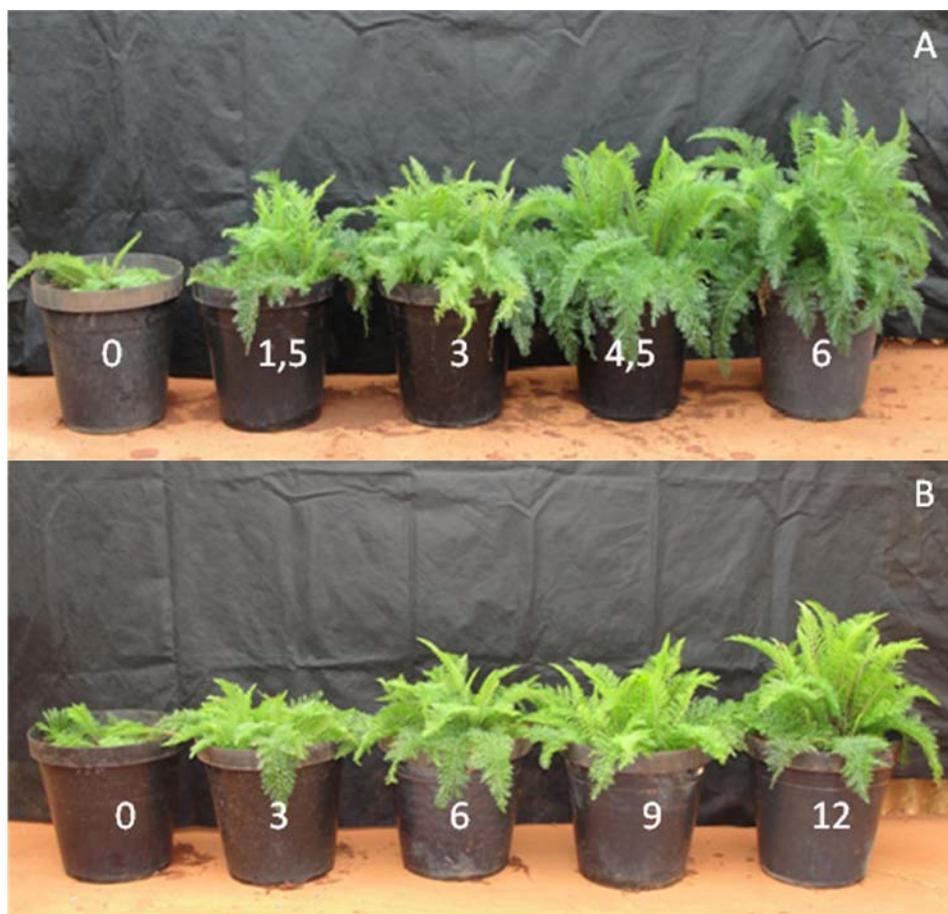


Figura 1 Plantas de *Achillea millefolium* L. cultivadas sob diferentes doses de adubação orgânica. A - esterco avícola (0 kg m⁻²; 1,5 kg m⁻²; 3 kg m⁻²; 4,5 kg m⁻² e 6 kg m⁻²). B - esterco bovino (0 kg m⁻², 3 kg m⁻², 6 kg m⁻², 9 kg m⁻² e 12 kg m⁻²). UFLA, Lavras, 2011

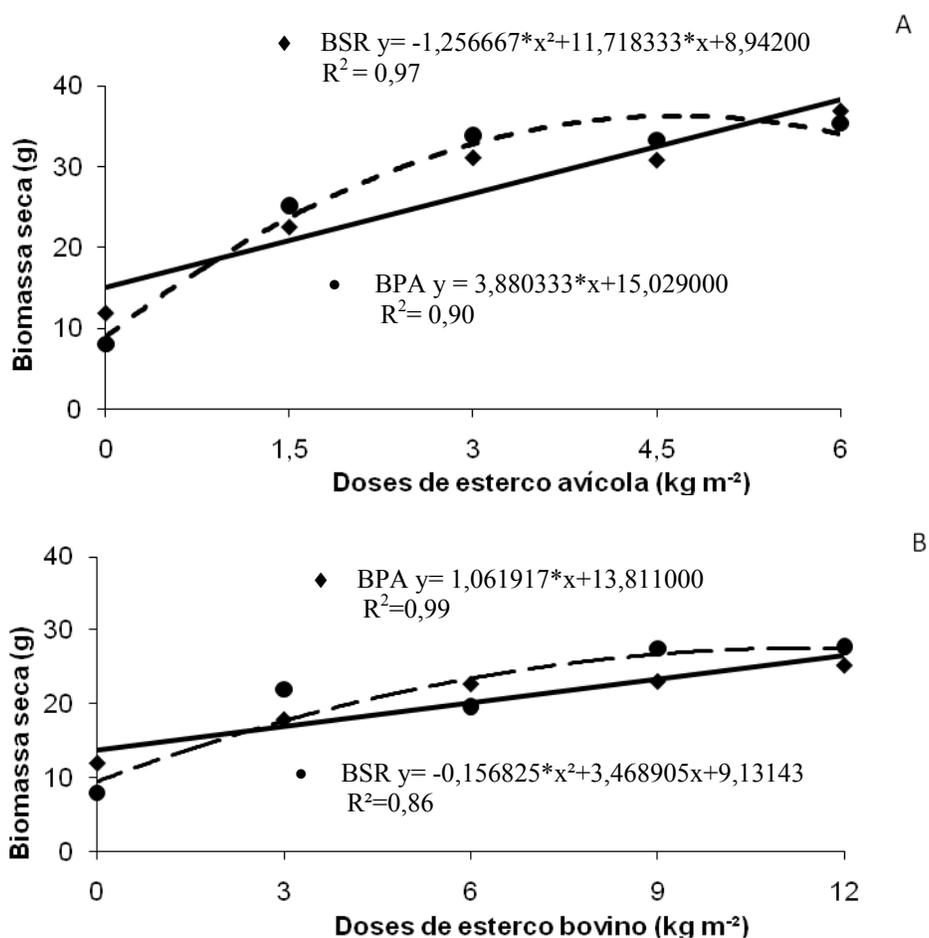


Gráfico 1 Produção de biomassa seca (g) da parte aérea (BPA) e raiz (BSR) de plantas e *Achillea millefolium* L. submetidas a diferentes doses de esterco avícola (A) e bovino (B). UFLA, Lavras, 2011. Significativo ao nível de 5% pelo teste F

Estudos realizados por Scheffer, Ronzelli Junior e Koehler (1993) evidenciaram resposta positiva da *A. millefolium* a adubação orgânica corroborando com os resultados observados no presente estudo. Os mesmos

autores realizaram um experimento de campo empregando diferentes doses de adubo orgânico curtido, caracterizado por uma mistura de esterco bovino e palha que foram incorporados ao solo com enxada rotativa. Os autores constataram que a dose de 3 kg m⁻² do adubo orgânico foi a que acumulou maior quantidade de biomassa nas folhas (133,6g planta⁻¹).

Em *Chamomilla recutita* cv. Madirituba, planta que também pertence a família Asteraceae e que produz óleo essencial de coloração azul como a *A. millefolium* do presente estudo, Ramos et al. (2004) verificaram que diferentes doses de cama de aviário apresentaram comportamento linear crescente para o peso e o número de capítulos florais, indicando que a dose que induz a produção máxima de camomila não foi utilizada, mas que composto aumentou a produtividade da espécie, corroborando com os resultados obtidos no presente trabalho.

Respostas distintas sobre o efeito das doses de adubo orgânico foram observadas por Costa et al. (2008) em *Ocimum selloi* Benth. As análises de crescimento apresentaram tendência quadrática e as maiores médias de BPA foram de 66,3g planta⁻¹ na dosagem de 9,7 kg m⁻² de esterco bovino e 101,33 g planta⁻¹ na dose de 4,3 kg m⁻² de esterco avícola. Em *Origanum vulgare* L. (orégano), Corrêa et al. (2010) verificaram que as doses de 10,1 kg m⁻² e 3,86 kg m⁻² de esterco bovino e avícola, respectivamente, promoveram maior disponibilidade de nutrientes para as plantas implicando em maior produção de biomassa da parte aérea. Os autores argumentaram que a redução de biomassa seca a partir do ponto máximo da curva dos adubos orgânicos pode ser devido ao excesso de nutrientes fornecido, podendo afetar o sistema radicular da planta.

Fazendo uma comparação entre os teores de nutrientes nos adubos orgânicos utilizados no presente estudo, pode-se inferir que as plantas adubadas com esterco avícola apresentaram maior acúmulo de BPA devido este adubo apresentar em média maiores teores de nutrientes.

De maneira geral, observa-se que as plantas medicinais e aromáticas respondem bem a adubação orgânica, mas a avaliação de fontes e doses é necessária para a maximização da produção vegetal e de metabólitos secundários de interesse. Nesse contexto, o presente estudo evidenciou que *A. millefolium* responde com maior intensidade a adubação com esterco avícola que com a bovina, onde a dose máxima avaliada no estudo (6 kg m^{-2}) apresentou o maior acúmulo de BPA. Porém, devido ao comportamento linear observado, não é possível afirmar se a aplicação de doses superiores a 6 kg m^{-2} de esterco avícola trariam ganhos ainda maiores a produção vegetal de *A. millefolium*.

3.2 Relação Raiz/ Parte aérea (R/PA)

Quanto à relação raiz/parte aérea (R/PA) ocorreram diferenças significativas com o aumento das dosagens de ambos os fertilizantes orgânicos. Para o esterco avícola notou-se tendência quadrática da R/PA com valores na faixa de 0,71 a 1,12. Já o esterco bovino exibiu comportamento linear com medições entre 0,71 a 1,24 (Gráfico 2). A menor relação R/PA (0,96) entre as doses de esterco avícola foi observada no tratamento que obteve maior acúmulo BPA na dose de 6 kg m^{-2} . Relação R/PA maior que o valor de 1,0 indica maior translocação da biomassa da parte aérea para as raízes. O farmacógeno da *A. millefolium* é a parte aérea da planta, logo, quanto menor a relação R/PA maior será o acúmulo de BPA, que é a parte de interesse da planta. Esses resultados corroboram com a superioridade do esterco avícola sobre o bovino, pois ao contrário do avícola, o esterco bovino no tratamento que acumulou maior BPA (12 kg m^{-2}), apresentou maior translocação de biomassa para a raiz (R/PA = 1,24).

Os resultados observados em *A. millefolium* são distintos daqueles observados por Corrêa et al. (2008) e Costa et al. (2008) que não verificaram

diferenças com o aumento das doses de esterco, evidenciando que para *Origanum vulgare* e *Ocimum selloi* houve distribuição equitativa de fotoassimilados da parte aérea para as raízes.

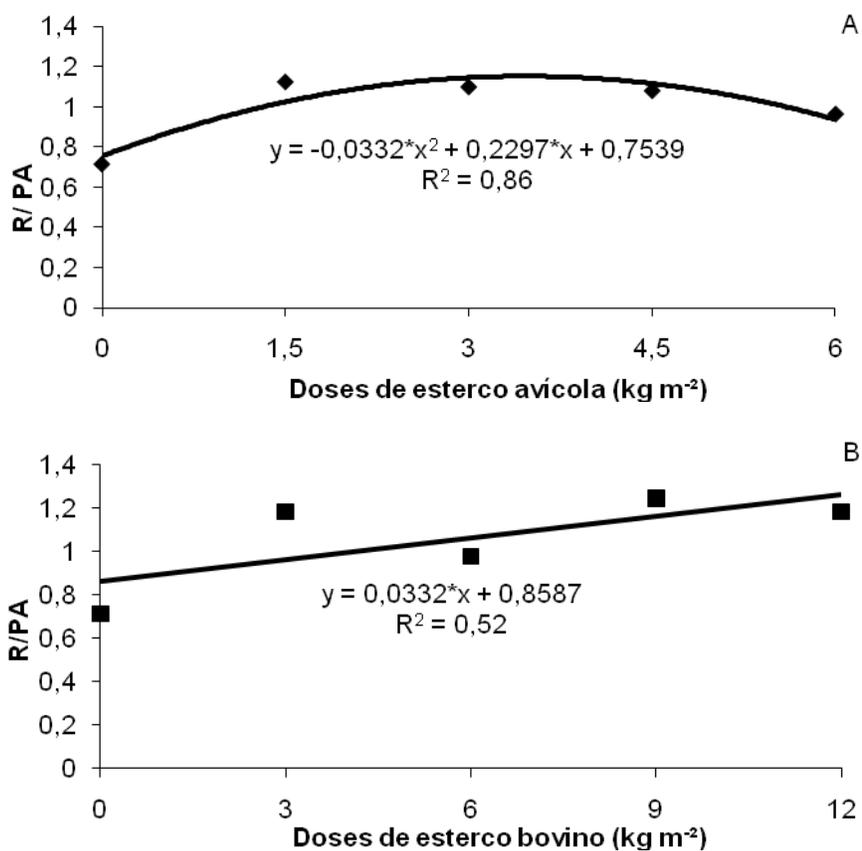


Gráfico 2 Relação Raiz/Parte aérea (R/PA) de plantas de *Achillea millefolium* L. em função de doses de esterco avícola (A) e bovino (B). UFLA, Lavras, 2011. Significativo ao nível de 5% pelo teste F

3.3 Teor, rendimento e composição química do óleo essencial

O óleo essencial extraído das folhas de *A. millefolium* caracterizou-se por um óleo líquido com alta viscosidade e intensa coloração azul.

Não houve diferença estatística para o teor ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ BSF) de óleo essencial de *A. millefolium* para ambos os fertilizantes orgânicos. A adubação com esterco avícola na dose de 6 kg m^{-2} foi a que produziu maior teor de óleo essencial (0,09%) e nas plantas adubadas com esterco bovino foi a dose de 9 kg m^{-2} (0,06%). As plantas de *A. millefolium* não adubadas apresentaram em média teor de 0,05%.

Os teores de óleo essencial das folhas de plantas adubadas de *A. millefolium* no presente estudo corroboram com os teores encontrados nas folhas de plantas provenientes da Lituânia (0,06 a 0,19%) e são superiores aos encontrados nas partes aéreas floridas de plantas de mil-folhas cultivadas na Índia (0,014%) (GUDAITYTÉ; VENSKUTONIS, 2007; SHAWL et al., 2002).

Por outro lado, o rendimento de óleo essencial de *A. millefolium* (g planta^{-1}) apresentou diferença significativa entre as doses de ambos os fertilizantes orgânicos (Gráfico 3A e B). O rendimento de óleo essencial, como é dependente do acúmulo de biomassa, apresentou resultado similar àquele observado para BPA (item Biomassa seca). O esterco avícola apresentou ajuste linear crescente, cujo valor máximo de rendimento foi de $0,025 \text{ g planta}^{-1}$ na dose de 6 kg m^{-2} , exibindo um rendimento cerca de 5 vezes superior àquele sem adubação ($0,05 \text{ g planta}^{-1}$) (Gráfico 3A). O esterco bovino também respondeu significativamente as dosagens aplicadas, exibindo ajuste linear, e apresentando na dose de 12 kg m^{-2} o maior rendimento de óleo ($0,010 \text{ g planta}^{-1}$) (Gráfico 3B).

Corroborando com o presente estudo, Amaral et al. (2008) demonstraram que não houve alterações no teor de óleo essencial de *Chamomilla recutita* cv. Mandirituba em resposta a adubação mineral e orgânica. Entretanto, houve acréscimo do rendimento de óleo essencial dos capítulos florais da camomila, devido ao aumento de biomassa proporcionada pela adubação nitrogenada. Em *Ocimum selloi*, Costa et al. (2008) observaram que plantas adubadas com $4,0 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco avícola tiveram maior

rendimento de óleo essencial ($0,031 \text{ g planta}^{-1}$), quando comparado às plantas adubadas com $8,1 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco bovino ($0,023 \text{ g planta}^{-1}$), inferindo que o incremento de óleo essencial pode ter sido influenciado pelo aumento dos níveis de nutrientes disponíveis no solo.

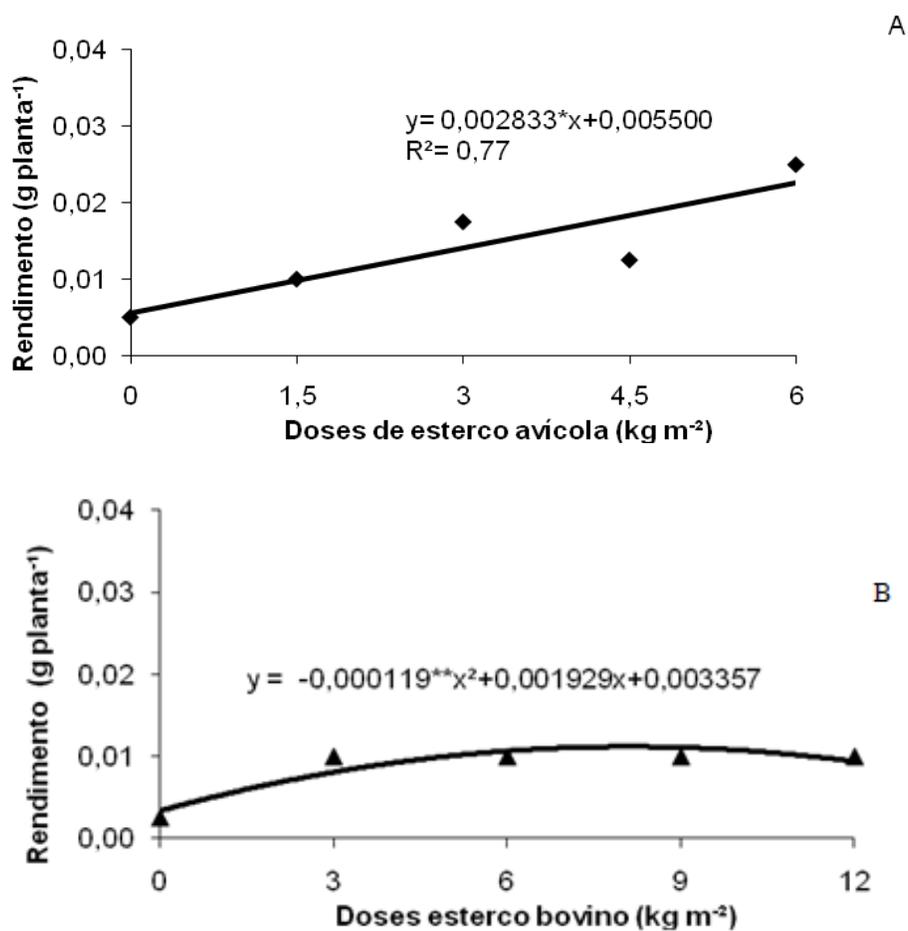


Gráfico 3 Rendimento de óleo essencial (mg planta^{-1}) de plantas de *Achillea millefolium* L. submetidas à diferentes doses de adubação de esterco avícola (A) e bovino (B). UFLA, Lavras, 2011. Significativo ao nível de 5% pelo teste F

As análises químicas das amostras de óleo essencial de *A. millefolium* identificaram, em média, cerca de 94% dos constituintes presentes no óleo, o qual é constituído de cerca de 8,0% de monoterpenos e 86,0% de sesquiterpenos (Tabelas 3 e 4). Não houve variações expressivas nas concentrações dos constituintes químicos do óleo entre as plantas do tratamento controle e adubadas com esterco bovino e avícola.

Cerca de 48 constituintes foram detectados no óleo essencial de *A. millefolium*, dos quais quatro constituintes representam aproximadamente 59% do óleo essencial. Os principais constituintes tanto no óleo das plantas adubadas com esterco avícola quanto com bovino são o borneol, o espatulenol, o *E*-nerolidol e o camazuleno (Figura, 2).

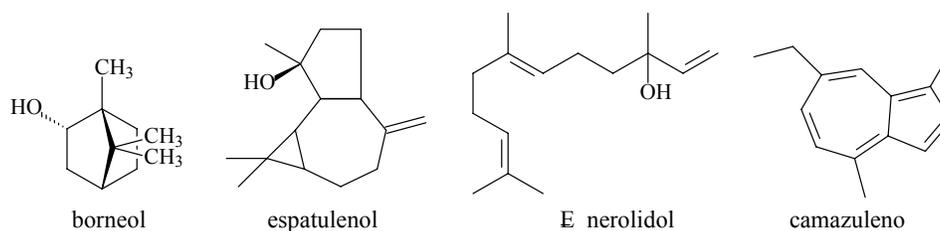


Figura 2 Estruturas químicas dos constituintes majoritários identificados no óleo essencial de *Achillea millefolium* L. submetidas à diferentes doses de adubação de esterco avícola e bovino. UFLA, Lavras, 2011. Fonte: NIST (2008)

Tabela 3 Composição química e porcentagem relativa da área da pico dos componentes do óleo essencial de folhas de *Achillea millefolium* cultivadas com diferentes doses de esterco avícola. UFLA, Lavras, 2011

| Tratamento | Constituinte | IR* | Esterco Avícola (kg m ⁻²) | | | | |
|------------|-------------------------------------|------|---------------------------------------|------|------|------|------|
| | | | 0 | 1,5 | 3 | 4,5 | 6 |
| 1 | □-terpineno | 1059 | 0,12 | 0,09 | nd | 0,07 | 0,11 |
| 2 | terpinoleno | 1087 | 0,31 | 0,24 | 0,31 | 0,22 | 0,32 |
| 3 | borneol | 1152 | 4,13 | 3,31 | 5,16 | 3,13 | 4,46 |
| 4 | cis-diidro-α-terpineol | 1164 | 0,48 | 0,36 | 0,64 | 0,39 | 0,71 |
| 5 | terpinen-4-ol | 1178 | 1,20 | 1,19 | 1,81 | 1,12 | 1,54 |
| 6 | acetato de bornila | 1274 | 0,15 | 0,17 | 0,20 | 0,14 | 0,20 |
| 7 | acetato de timol | 1347 | nd | 0,23 | 0,26 | 0,22 | 0,24 |
| 8 | Z-cariofileno | 1409 | 1,41 | 2,46 | 2,40 | 1,94 | 2,28 |
| 9 | humuleno | 1442 | 0,27 | 0,48 | 0,45 | 0,40 | 0,44 |
| 10 | β-cubebeno | 1470 | 1,34 | 0,83 | 1,56 | 1,97 | 4,03 |
| 11 | β-ionona | 1476 | 0,25 | 0,20 | 0,28 | 0,26 | 0,31 |
| 12 | germacreno D | 1485 | nd | nd | nd | 0,23 | 0,31 |
| 13 | α-farneseno | 1498 | 0,18 | 0,20 | 0,39 | 0,51 | 0,81 |
| 14 | cubebol | 1513 | nd | 0,17 | nd | 0,13 | 0,18 |
| 15 | δ-cadineno | 1524 | nd | 0,21 | 0,40 | 0,39 | 0,36 |
| 16 | cis-nerolidol | 1540 | 0,79 | 0,56 | 0,84 | 0,91 | 0,90 |
| 17 | α-calacoreno | 1543 | nd | nd | 0,29 | 0,32 | 0,27 |
| 18 | óxido de aromadendreno | 1550 | 2,32 | 3,02 | 3,61 | 3,44 | 3,19 |
| 19 | espatulenol | 1561 | 5,47 | 4,82 | 5,50 | 5,47 | 4,95 |
| 20 | trans-nerolidol | 1566 | 4,37 | 5,23 | 5,05 | 4,73 | 4,25 |
| 21 | álcool de cariofilenila | 1571 | 0,48 | 0,39 | 0,35 | 0,37 | 0,35 |
| 22 | hidrato de sesquisabineno | 1574 | 0,47 | 0,28 | 0,24 | 0,16 | 0,22 |
| 23 | óxido de cariofileno | 1576 | 1,40 | 1,65 | 1,62 | 1,70 | 1,55 |
| 24 | globulol | 1588 | 0,29 | 0,20 | nd | 0,16 | 0,25 |
| 25 | β-copaen-4-ol | 1590 | 0,85 | 1,23 | 1,07 | 1,17 | 0,92 |
| 26 | viridiflorol | 1594 | 1,40 | 0,85 | 0,77 | 0,80 | 1,46 |
| 27 | ledol | 1604 | 0,17 | 0,38 | 0,31 | 0,37 | 0,25 |
| 28 | epoxido de humuleno | 1606 | nd | 0,27 | nd | 0,21 | 0,22 |
| 29 | óxido de β-himachaleno | 1618 | nd | 0,26 | nd | 0,13 | nd |
| 30 | 10-epi-□-eudesmol | 1625 | 1,08 | 0,89 | 0,82 | 0,90 | 0,76 |
| 31 | 1-epi-cubenol | 1630 | 0,87 | 0,58 | 0,57 | 0,73 | 0,70 |
| 32 | α/β-cariofila-4(14),8(15)-dien-5-ol | 1637 | 2,87 | 1,76 | 1,72 | 2,05 | 2,19 |
| 33 | t-muurolol | 1639 | 0,36 | 0,51 | 0,40 | 0,52 | 0,39 |
| 34 | óxido de α-bisabolol B | 1648 | 0,42 | 0,43 | 0,31 | 0,39 | 0,40 |

“Tabela 3, conclusão”

| | | | | | | | |
|--------------------------------|--|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 35 | selin-11-en-4- α -ol | 1657 | 0,44 | 0,46 | nd | 0,40 | nd |
| 36 | 14-hidroxi-9-epi- β -cariofileno | 1668 | 2,16 | 0,76 | 0,76 | 0,82 | 1,24 |
| 37 | α -cadinol | 1676 | 2,46 | 1,48 | 1,25 | 1,49 | 1,69 |
| 38 | α -bisabolol | 1683 | 1,09 | 0,99 | 1,02 | 1,07 | 0,97 |
| 39 | 2Z,6Z-farnesol | 1701 | 1,07 | 1,27 | 1,00 | 1,26 | 0,94 |
| 40 | camazuleno | 1734 | 45,35 | 44,25 | 46,14 | 42,67 | 43,38 |
| 41 | 2E,6E-farnesol | 1741 | 0,35 | 0,28 | nd | 0,24 | nd |
| 42 | óxido de α -bisabolol A | 1744 | nd | 0,26 | nd | 0,28 | nd |
| 43 | 14-hidroxi- α -muuroleno | 1779 | 2,03 | 1,48 | 1,74 | 2,16 | 1,73 |
| 44 | acetato de β -eudesmol | 1791 | 2,68 | 2,77 | 2,95 | 3,46 | 2,65 |
| 45 | acetato de epi- α -bisabolol | 1800 | 2,18 | 1,67 | 1,74 | 1,88 | 1,59 |
| 46 | óxido de isolongifolol | 1816 | 0,73 | 0,54 | 0,61 | 0,78 | 0,61 |
| Total de monoterpênos | | | 6,38 | 5,58 | 8,40 | 5,29 | 7,58 |
| Total de sesquiterpênos | | | 86,08 | 84,84 | 86,79 | 88,01 | 86,28 |
| TOTAL | | | 92,46 | 90,42 | 95,19 | 93,30 | 93,85 |

Índice de retenção relativo a série de *n*-alcanos em coluna capilar HP-5 na ordem de eluição.

nd: não detectado.

Tabela 4 Composição química e porcentagem relativa da área do pico dos componentes do óleo essencial de folhas de *Achillea millefolium* cultivadas com diferentes doses de esterco bovino. UFLA, Lavras, 2011

| Tratamento | | Esterco Bovino (kg m ⁻²) | | | | |
|-----------------------------------|------|--------------------------------------|------|------|------|------|
| Constituinte | IR* | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 |
| 1 \square -terpineno | 1059 | 0,12 | 0,20 | 0,11 | 0,18 | 0,22 |
| 2 terpinoleno | 1087 | 0,31 | 0,43 | 0,29 | 0,38 | 0,37 |
| 3 borneol | 1152 | 4,13 | 5,45 | 3,88 | 4,56 | 4,32 |
| 4 cis-diidro- α -terpineol | 1164 | 0,48 | 0,77 | 0,40 | 0,57 | 0,58 |
| 5 terpinen-4-ol | 1178 | 1,20 | 1,66 | 1,18 | 1,40 | 1,36 |
| 6 acetato de bornila | 1274 | 0,15 | 0,23 | 0,15 | 0,17 | 0,19 |
| 7 acetato de timol | 1347 | nd | 0,24 | 0,17 | 0,16 | 0,21 |
| 8 Z-cariofileno | 1409 | 1,41 | 1,99 | 1,70 | 1,83 | 2,18 |
| 9 humuleno | 1442 | 0,27 | 0,37 | 0,33 | 0,35 | 0,41 |
| 10 β -cubebeno | 1470 | 1,34 | 2,26 | 1,80 | 2,33 | 2,18 |
| 11 β -ionona | 1476 | 0,25 | 0,27 | 0,24 | 0,29 | 0,25 |
| 12 germacreno D | 1485 | nd | 0,17 | nd | nd | nd |
| 13 α -farneseno | 1498 | 0,18 | 0,32 | 0,30 | 0,41 | 0,49 |

“Tabela 4, conclusão”

| | | | | | | | |
|--------------------------------|---|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 14 | cubebol | 1513 | nd | 0,20 | 0,30 | nd | nd |
| 15 | δ -cadineno | 1524 | nd | 0,20 | 0,29 | nd | 0,22 |
| 16 | cis-nerolidol | 1540 | 0,79 | 0,89 | 1,05 | 0,68 | 0,49 |
| 17 | α -calacoreno | 1543 | nd | 0,12 | 0,18 | nd | nd |
| 18 | óxido de aromadendreno | 1550 | 2,32 | 3,05 | 3,37 | 2,62 | 2,65 |
| 19 | espatulenol | 1561 | 5,47 | 5,38 | 6,29 | 5,13 | 4,48 |
| 20 | trans-nerolidol | 1566 | 4,37 | 4,83 | 4,87 | 4,21 | 3,94 |
| 21 | álcool de cariofilenila | 1571 | 0,48 | 0,44 | 0,47 | 0,33 | 0,28 |
| 22 | hidrato de sesquisabineno | 1574 | 0,47 | 0,42 | 0,41 | 0,30 | 0,20 |
| 23 | óxido de cariofileno | 1576 | 1,40 | 1,58 | 1,60 | 1,45 | 1,34 |
| 24 | globulol | 1588 | 0,29 | 0,34 | 0,38 | 0,20 | nd |
| 25 | β -copaen-4-ol | 1590 | 0,85 | 0,96 | 1,00 | 0,86 | 0,83 |
| 26 | viridiflorol | 1594 | 1,40 | 1,62 | 1,67 | 1,17 | 0,79 |
| 27 | ledol | 1604 | 0,17 | 0,32 | 0,31 | 0,25 | 0,21 |
| 28 | epoxido de humuleno | 1606 | nd | 0,27 | nd | 0,21 | 0,22 |
| 29 | óxido de β -himachaleno | 1618 | nd | 0,19 | 0,16 | nd | nd |
| 30 | 10-epi- \square -eudesmol | 1625 | 1,08 | 1,01 | 1,11 | 0,91 | 0,71 |
| 31 | 1-epi-cubenol | 1630 | 0,87 | 0,81 | 0,92 | 0,74 | 0,52 |
| 32 | α/β -cariofila-4(14),8(15)-dien-5-ol | 1637 | 2,87 | 2,37 | 2,74 | 2,18 | 1,66 |
| 33 | t-muurolol | 1639 | 0,36 | 0,38 | 0,33 | 0,34 | 0,33 |
| 34 | óxido de α -bisabolol B | 1648 | 0,42 | 0,44 | 0,40 | 0,39 | 0,32 |
| 35 | β -eudesmol | 1652 | nd | 0,25 | 0,20 | nd | nd |
| 36 | selin-11-en-4- α -ol | 1657 | 0,44 | 0,41 | nd | nd | nd |
| 37 | 14-hidroxi-9-epi- β -cariofileno | 1668 | 2,16 | 1,20 | 0,70 | 2,07 | 0,98 |
| 38 | α -cadinol | 1676 | 2,46 | 1,87 | 2,16 | 1,96 | 1,47 |
| 39 | α -bisabolol | 1683 | 1,09 | 0,92 | 1,00 | 1,06 | 1,03 |
| 40 | 2Z,6Z-farnesol | 1701 | 1,07 | 0,93 | 1,19 | 1,03 | 1,12 |
| 41 | camazuleno | 1734 | 45,35 | 40,49 | 42,48 | 47,27 | 52,01 |
| 42 | 2E,6E-farnesol | 1741 | 0,35 | 0,23 | 0,30 | nd | 0,30 |
| 43 | 14-hidroxi- α -muuroleno | 1779 | 2,03 | 1,46 | 2,14 | 1,87 | 1,61 |
| 44 | acetato de β -eudesmol | 1791 | 2,68 | 2,13 | 2,14 | 2,90 | 2,60 |
| 45 | acetato de epi- α -bisabolol | 1800 | 2,18 | 1,39 | 1,79 | 1,84 | 1,76 |
| 46 | oxido de isolongifolol | 1816 | 0,73 | 0,49 | 0,71 | 0,66 | 0,58 |
| 47 | 2E,6E-acetato de farnesil | 1849 | 0,65 | 0,43 | 0,62 | 0,60 | 0,47 |
| Total de monoterpenos | | | 6,38 | 8,96 | 6,19 | 7,43 | 7,25 |
| Total de sesquiterpenos | | | 88,24 | 83,42 | 87,66 | 88,39 | 88,65 |
| TOTAL | | | 94,62 | 92,38 | 93,84 | 95,82 | 95,90 |

Índice de retenção relativo a série de *n*-alcanos em coluna capilar HP-5 na ordem de eluição.

nd: não detectado.

Flutuações nos teores de borneol foram observadas tanto nas diferentes doses de esterco avícola (3,31 a 5,16%) como nas doses de esterco bovino (3,88 a 5,45%). Os teores de espatulenol nos óleos essenciais de plantas de *A. millefolium* não adubadas (5,47%) e adubadas com esterco avícola (4,82 a 5,50%) e bovino (4,48 a 6,29%) não indicaram variações muito expressivas, porém houve uma tendência maior de biossíntese e acúmulo desse constituinte nas plantas adubadas com esterco bovino, cujo teor máximo foi de 6,29% na dose de 6,0 kg m⁻² (Gráficos 4B e 5B e Tabelas 3 e 4).

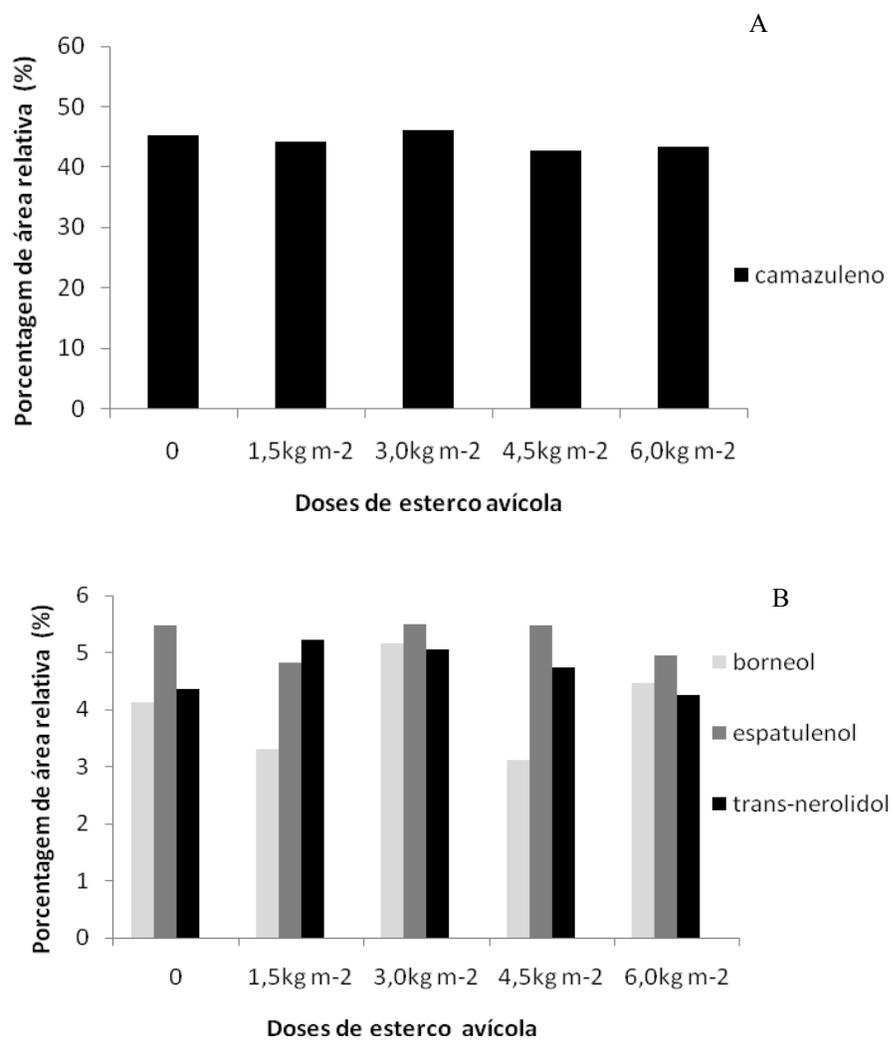


Gráfico 4 Constituintes majoritários do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. submetidos à adubação com esterco avícola em diferentes dosagens, UFLA, Lavras, 2011

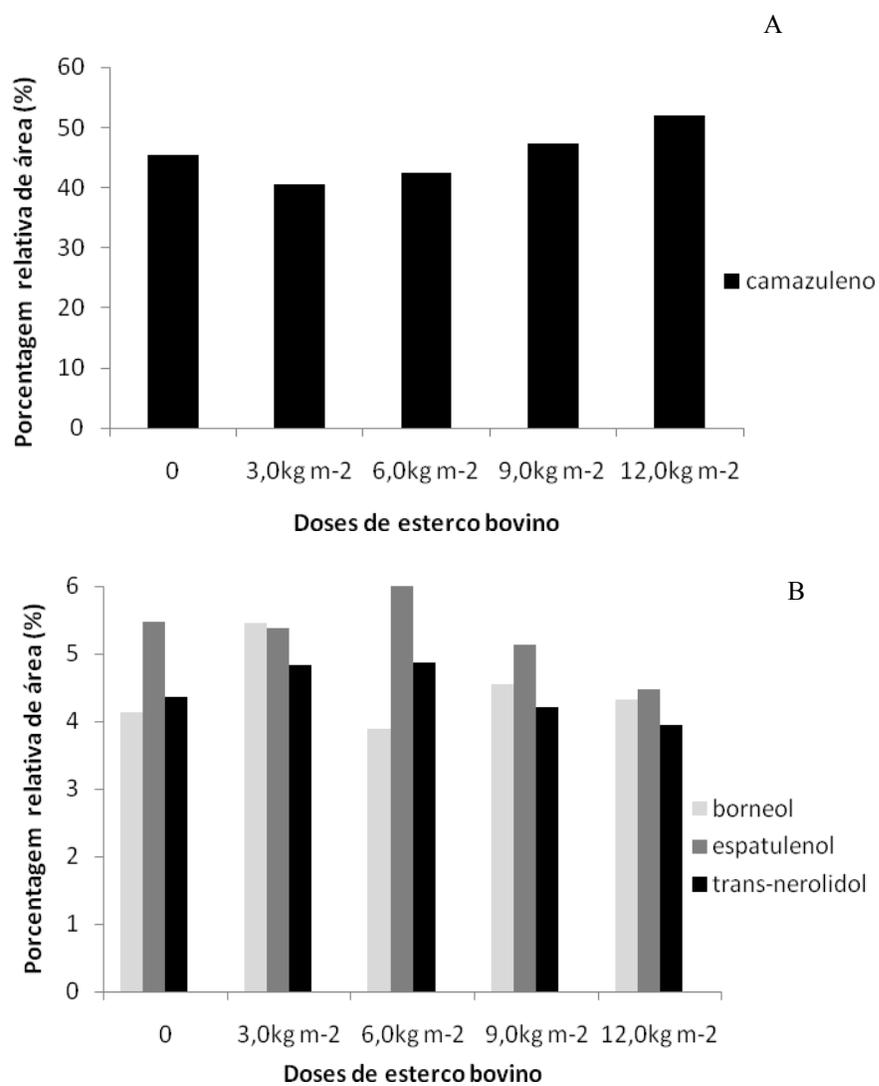


Gráfico 5 Porcentagem relativa de área dos constituintes majoritários do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. submetidos à adubação com esterco avícola em diferentes dosagens, UFLA, Lavras, 2011

Quanto aos teores de trans-nerolidol, apesar do tratamento controle ter apresentado um teor considerável, curiosamente em ambos os fertilizantes orgânicos, houve uma tendência de diminuição da sua concentração com o aumento das doses de adubos.

O constituinte majoritário do óleo essencial de *A. millefolium* em todos os tratamentos foi o camazuleno, o que explica a intensa coloração azul observada nesse óleo. A concentração de camazuleno no óleo essencial das plantas de *A. millefolium* adubadas com diferentes dosagens de esterco avícola compreendeu a faixa de 44,25% a 46,14% e para o esterco bovino entre 40,49% a 52,01% (Figuras 3A e 4A e Tabelas 3 e 4).

Estudos fitoquímicos realizados em diversas regiões do mundo têm demonstrado alta complexidade e diversidade da composição química volátil de *A. millefolium* (AGNIHOTRI et al., 2005; GUDAITYTE; VENSKUTONIS, 2007; JUDZENTIENE; MOCKUTE, 2010; ORAV; ARAK; RAAL, 2006; SHAWL et al., 2002).

Orav, Arak e Raal (2006) identificaram 102 componentes na composição química volátil de *A. millefolium* cultivadas na Estônia e outros países da Europa. As amostras oriundas da Estônia, Hungria, Grécia, Moldávia, Latvia, Lituânia e Alemanha continham altas quantidades de monoterpenos e camazuleno. Já os óleos da França, Bélgica, Rússia, Armênia, Espanha e Itália eram ricos em monoterpenos oxigenados e pequena quantidade de camazuleno.

Gudaityt e Venskutonis (2007), avaliando 14 acessos de *A. millefolium* na Lituânia identificaram como principais constituintes β -pinene (0,33 a 62,29%), β -mirceno (0,05 a 69,76%), α -felandreno (0,13 e 29,96%), 1,8-cineol (2,30 a 21,57%) e camazuleno (0,08 a 30,70%). Em dois trabalhos realizados na Índia, Agnihotri et al. (2005) e Shawl et al. (2002) observaram composições e concentrações totalmente distintas dos componentes voláteis do óleo essencial de *A. millefolium* entre si e com a do presente estudo. Shawl et al. (2002)

identificaram a presença majoritária de canfora (28%), 1,8-cineol (12%), germacrene D (12%) e acetato de cis crisantenila (8%), enquanto Agnihotri et al. (2005) identificaram β -pineno (10,6 % a 17,7 %), 1,8-cineol (3,0 % a 15,1 %), borneol (0,2 % a 12,1 %) e β -cariofileno (8,5 % a 16,2 %).

Nota-se que nos acessos de *A. millefolium* estudados por Agnihotri et al. (2005) e Shawl et al. (2002) na Índia o camazuleno estava ausente. Kubelka et al. (1999) afirmam que o padrão de sesquiterpenos presentes no óleo essencial de *A. millefolium* está intimamente ligado ao nível de ploidia, bem como a características morfológicas e fitoquímicas específicas. O óleo essencial de *A. millefolium* do presente estudo apresentou um conteúdo muito expressivo de camazuleno, independente da adubação ou não da planta. No presente, estudo não foi avaliado o nível de ploidia dessa espécie, porém de acordo com Hoffmann et al. (1992), geralmente as espécies tetraplóides são consideradas produtoras de pró-camazulenos, enquanto as hexaplóides e octaplóides são livres de pró-camazulenos.

4 CONCLUSÕES

A adubação com esterco avícola na dose de 6 kg m⁻² produz maior acúmulo de biomassa na parte aérea e rendimento do óleo essencial. Independente da adubação ou não das plantas, o óleo essencial da *Achillea millefolium* é constituído majoritariamente por camazuleno. Tanto as fontes de adubo orgânico quanto as doses não inferiram expressivamente na composição química do óleo.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Illinois: Allured, 2007. 804 p.
- AFSHARYPUOR, S.; ASGARY, S.; LOCKWOOD, G. B. Volatile constituents of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium* from Iran. **Flavour and Fragrance Journal**, Malden, v. 11, n. 5, p. 265-267, Sept. 1996.
- AGNIHOTRI, V. K. et al. Chemical variability in the essential oil components of *Achillea millefolium* Agg. from different himalayan habitats, India. **Planta Med**, New York, v. 3, n. 71, p. 280-283, 2005.
- AMARAL, W. et al. Desenvolvimento, rendimento e composição de óleo essencial de camomila [*Chamomila recutita* (L.) Rauschert] sob adubação orgânica e mineral. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 4, p. 1-8, jul./ago. 2008.
- BRANT, R. S. et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1401-1407, set./out. 2009.
- CORRÊA, R. M. et al. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 80-89, jan./fev. 2010.
- COSTA, L. C. B. et al. Efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.]. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 16-20, jan./fev. 2008.
- FERREIRA, D. F. **Sistema para análise de variância para dados balanceados SISVAR**. Lavras: UFLA, 1999. 92 p.

GUDAITYTE, O.; VENSKUTONIS, P. R. Chemotypes of *Achillea millefolium* transferred from 14 different locations in Lithuania to the controlled environment. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 35, n. 9, p. 582-592, Sept. 2007.

HOFMANN, L. et al. Essential oil composition of three polyploidy in the *Achillea millefolium* 'complex'. **Phytochemistry**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 537-542, 1992.

JUDZENTIENE, A.; MOCKUTE, D. Essential oil composition of two yarrow taxonomic forms. **Central European Journal of Biology**, Warsaw, v. 5, n. 3, p. 346-352, June 2010.

KOTAN, A. C. et al. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. **Journal Science Food Agriculture**, Malden, v. 90, n. 1, p. 145-160, Jan. 2010.

KUBELKA, W. et al. Chemotaxonomic relevance of sesquiterpenes within the *Achillea millefolium* group. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 437-444, Aug. 1999.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH mass spectral library**. Gaithersburg, 2008. Software.

ORAV, A.; ARAK, E.; RAAL, A. Phytochemical analysis of the essential oil of *Achillea millefolium* L. from various European Countries. **Natural Product Research, Formerly Natural Product Letters**, London, v. 20, n. 12, p. 1082-1088, 2006.

PEROZIN, M. M.; FRANCISCO, N. **Revisão bibliográfica das sinonímias populares das 16 plantas medicinais selecionadas para estudos pelo projeto de fitoterapia do SUDS/PR**. Curitiba: SESA/FCMR, 1990. 130 p.

RAMOS, M. B. M. et al. Produção de capítulos florais da camomila em função de populações de plantas e da incorporação ao solo de cama-de-aviário.

Horticultura Brasileira, Brasília, v. 22, n. 3, p. 566-572, maio/jun. 2004.

SANTOS, M. F. et al. Esterco bovino e biofertilizante no cultivo de erva-cidreira-verdadeira (*Melissa officinalis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 355-359, jul./ago. 2009.

SCHEFFER, M. C.; RONZELLI JUNIOR, P.; KOEHLER, H. S. Influence of organic fertilization on the biomass, yield and composition of the essential oil of *Achillea millefolium* L. **Acta Horticulturae**, Korbeek-Lo, v. 331, n. 14, p. 109-112, 1993.

SHAWL, A. S. et al. Essential oil composition of *Achillea millefolium* L. growing wild in Kashmir, India. **Flavour and Fragrance Journal**, Malden, v. 17, n. 3, p. 165-168, June 2002.