



LUDMILA CAPRONI MORAIS

**“*Azospirillum brasilense* ASSOCIADO A TIPOS DE ADUBAÇÃO
NO DESEMPENHO AGRONÔMICO, AVALIAÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL E ANATOMIA DE FOLHAS DE *Pelargonium
graveolens* L’Hér”**

LAVRAS - MG

2021

LUDMILA CAPRONI MORAIS

**“*Azospirillum brasilense* ASSOCIADO A TIPOS DE ADUBAÇÃO NO DESEMPENHO
AGRONÔMICO, AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL
E ANATOMIA DE FOLHAS DE *Pelargonium graveolens* L’Hér”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Plantas medicinais aromáticas e
condimentares como parte das exigências para
obtenção do título de doutora.

Prof(a). Dr(a). Joyce Doria
Orientadora

LAVRAS – MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Morais, Ludmila Caproni.

“*Azospirillum brasilense* associado a tipos de adubação no desempenho agronômico, avaliação do óleo essencial e anatomia de folhas de *Pelargonium graveolens* L’HÉR” / Ludmila Caproni
Morais. - 2021.

105 p. : il.

Orientador(a): Joyce Doria.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.
Bibliografia.

1. Plantas medicinais. 2. Cultivo sustentável. 3. Óleos essenciais. I. Doria, Joyce. II. Título.

LUDMILA CAPRONI MORAIS

***AZOSPIRILLUM BRASILENSE* ASSOCIADO A TIPOS DE ADUBAÇÃO NO
DESEMPENHO AGRONÔMICO, AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIALE
ANATOMIA DE FOLHAS DE *PELARGONIUM GRAVEOLENS* L'HÉR**

***AZOSPIRILLUM BRASILENSE* ASSOCIATED WITH TYPES OF FERTILIZATION
IN AGRONOMIC PERFORMANCE, EVALUATION OF ESSENTIAL OIL AND
ANATOMY OF *PELARGONIUM GRAVEOLENS* L'HÉR LEAVES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Plantas medicinais aromáticas e
condimentares como parte das exigências para
obtenção do título de doutora.

APROVADA em 20 de agosto de 2021.

Dra.Fernanda Cristina do Nascimento UNESP

Dr.Filipe Almendagna Rodrigues UFLA

Dr. Manuel Losada Gavilanes UFLA

Dr. Wilson Magela Gonçalves UFLA

Prof(a). Dr(a)Joyce Dória

Orientadora

LAVRAS – MG

2021

*Aos meus pais Maria Aparecida e Sebastião.
Aos meus irmãos Marina, Willian, Tais e Igor.
A meu querido esposo Weliton, dedico.*

Agradecimentos

Agradeço a DEUS pela vida e pela maravilha da natureza a qual me sinto chamada a amar e cuidar. Também agradeço a ELE pelo pai e pela mãe que me presenteou nesta Terra - os professores de minha vida- que me ensinaram desde a infância a arte do crescer, estudar, batalhar; e hoje são meu porto seguro, minha razão de ser.

Aos meus irmãos que são meus melhores amigos, aqueles que estiveram sempre dispostos a ouvir, motivar e acreditaram em mim, sempre contribuindo com prontidão no que fosse preciso.

Aos meus amigos, comunidade e família pela paciência, por mesmo na distância estarem sempre torcendo por mim.

Ao meu esposo por ser a alegria, a paz e a confiança de todos os dias.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de pós-graduação em Plantas medicinais, aromáticas e condimentares por tamanha oportunidade de aprendizagem.

Aos programas de fomento interno da UFLA e a CAPEs, que tornaram possível este trabalho pelo apoio financeiro. Aos professores, pelos conteúdos ministrados com maestria e disponibilidade de usos laboratoriais e acessibilidade a informação sejam em suas salas, em momentos extra classe.

Aos meus colegas de trabalho que me incentivaram e estiveram ao meu lado compartilhando conhecimentos, deixando saudades de toda amizade.

Aos colegas que ofereceram abrigo nos momentos de dificuldade, nos quais sem o apoio nunca teria concluído este curso.

Aos técnicos que sempre prestativos estiveram dispostos a contribuir nas mais diversas situações.

Aos meus senhorios que tornaram a estadia em Lavras como um lar por tamanho acolhimento.

A minha orientadora Joyce Doria, pela leveza que sempre cuidou de nossos assuntos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

O gerânio (*Pelargonium graveolens* L.) é uma planta medicinal aromática da família Geraniaceae muito utilizada na indústria de alimentos, farmacêutica, cosmética e aromaterapia devido a vasta gama de atividades terapêuticas proporcionada por sua composição química. Estudos sobre o cultivo de gerânio demonstram que diferentes fatores bióticos e abióticos podem influenciar no desenvolvimento cultura. Desta forma, emerge a necessidade da elaboração de um sistema de manejo estratégico que favoreça seu desenvolvimento e produção de metabólitos secundários de interesse comercial. Sendo assim, objetivou-se avaliar os efeitos fontes de adubação no crescimento agrônômico, teor, rendimento e composição química de óleo essencial, bem como as características anatômicas da folha e conteúdo de pigmentos fotossintéticos da espécie submetida às fontes de adubação. As adubações foram representadas por sete tratamentos: T1) solo + N-P-K; T2) solo sem adubação; T3) solo + adubação biodinâmica; T4) solo + adubação orgânica; T5) solo+adubação biodinâmica + bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP); T6) solo + adubação orgânica +BPCP; e T7) solo + composto. As plantas submetidas aos tratamentos T1, T3 e T5 apresentaram menores taxas de crescimento agrônômico, bem como o teor e o rendimento do óleo essencial escasso. A aplicação de *Azospirillum brasilense* (BPCP) não ocasionou diferenças significativas no crescimento agrônômico, teor e rendimento de óleo essencial de *P. graveolens*. As plantas submetidas aos tratamentos T4 e T6, adubação orgânica e adubação orgânica + BPCP, respectivamente, foram as que apresentaram maior crescimento agrônômico, teor e rendimento de óleo essencial. Dessa forma, sugere-se que a adubação orgânica pode ser considerada uma tecnologia de produção promissora para o cultivo comercial de *P. graveolens*. As plantas submetidas a compostagem (T7) apresentaram maiores espessuras nas características anatômicas foliares avaliadas. Maiores teores de clorofila (a, b e total) e carotenóides foram obtidos em plantas cultivadas apenas em solo (T2) e no tratamento biodinâmico (T3).

Palavras-chave: Malva cheirosa. Biodinâmica. Compostagem. Plantas medicinais. Gerânio.

ABSTRACT

Geranium (*Pelargonium graveolens* L.) is an aromatic medicinal plant of the Geraniaceae family, widely exploited in the pharmaceutical, cosmetic and aromatherapy food industry due to the wide range of therapeutic activities provided by its chemical composition. Studies on the cultivation of geranium demonstrate that different biological and abiotic factors can influence the development of the crop. Thus, there is a need to develop a strategic management system that favors the development and production of secondary metabolites of commercial interest. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of fertilizer sources on agronomic growth, essential oil content, yield and chemical composition, as well as the anatomical characteristics of the leaf and photosynthetic pigment content of the species subjected to fertilizer sources. Fertilization was represented by seven treatments: T1) soil + N-P-K; T2) soil without fertilization; T3) soil + biodynamic fertilization; T4) soil + organic fertilization; T5) soil + biodynamic fertilization + plant growth promoting bacteria (BPCP); T6) soil + organic fertilizer + BPCP; and T7) soil + compost. Plants submitted to treatments T1, T3 and T5 had lower agronomic growth rates, as well as scarce essential oil content and yield. The application of *Azospirillum brasilense* (BPCP) did not cause significant differences in the agronomic growth, content and essential oil yield of *P. graveolens*. Plants submitted to treatments T4 and T6, organic fertilization and organic fertilization + BPCP, respectively, were the ones that added the greatest agronomic growth, essential oil content and yield. Thus, it is inherent that an organic fertilization can be considered a promising production technology for the commercial cultivation of *P. graveolens*. Plants submitted to compost (T7) had greater thickness in the evaluated leaf anatomical characteristics. Higher levels of chlorophyll (a, b and total) and carotenoids were extracted from plants grown only in soil (T2) and in the biodynamic treatment (T3).

Keywords: Scented mallow. Biodynamics. Compost. Medicinal plants. Geranium.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	7
	CAPÍTULO 1	
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
2.1	Sustentabilidade na agricultura e o cultivo de plantas medicinais.....	9
2.1.1	Cultivo Orgânico.....	14
2.1.2	Cultivo Biodinâmico.....	11
2.1.3	<i>Azospirillum brasilensis</i> e as bactérias promotoras de crescimento em plantas....	13
2.2	<i>Pelargonium graveolens</i> L.'Hér.....	15
2.2.1	Caracterização botânica.....	16
2.2.2	Caracterização agronômica.....	17
2.2.3	Bioatividade <i>Pelargonium graveolens</i>	19
3	REFERÊNCIAS	22
4	CAPÍTULO 2	
	ARTIGO 1 - TECHNICAL AND ECONOMIC PERFORMANCE AND SUSTAINABILITY OF BIODYNAMIC FARMING SYSTEMS - A REVIEW.....	17
5	CAPÍTULO 3	
	ARTIGO 2 – DIFFERENT FERTILIZER SOURCES INFLUENCE THE VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL CONTENT AND YIELD OF <i>PELARGONIUM GRAVEOLENS</i> L.'HÉR (GERANIUM).....	23
6	CAPÍTULO 4	
	ARTIGO 3 - FONTES DE ADUBAÇÃO INFLUENCIAM NA ANATOMIA FOLIAR E NO CONTEÚDO DE PIGMENTOS DE <i>PELARGONIUM GRAVEOLENS</i> L.'HÉR (GERÂNIO).....	30

1. INTRODUÇÃO GERAL

Pelargonium graveolens L'Hérit é conhecida popularmente como gerânio ou malva cheirosa. Em estudos etnobotânicos, o uso da espécie foi considerado milenar, sendo empregado pela medicina tradicional em forma de chá das folhas, das raízes, mastigação e consumo *in natura*, além de inúmeras formas de preparo e manuseio da planta com diversos fins terapêuticos (ASGARPAHAH E RAMEZANLOO, 2015). Desta forma, ainda em dias atuais, o gerânio é cultivado e comercializado como importante planta aromática, no que tange a indústria da perfumaria, cosméticos, alimentícia e farmacêutica (SZUTT et. al., 2019).

Os compostos químicos do óleo essencial e extrato das folhas de gerânio apresentam vasta gama de bioatividades, sendo relatados benefícios a saúde da mulher, sejam hormonais ou em caso de candidíase vaginal (MASULLO, 2015; DOS SANTOS et. al., 2020), bem como no tratamento da hiperglicemia, adstringente, diurético, antidiabético, antiespasmódico e antioxidante (MASULLO, 2015; HAMIDPOUR et. al., 2017). Há registros também com alto potencial antimicrobiano (DORMAN, 2000; BOUKHATEM et al., 2013; MAZZEI, 2020), efeito repelente a moscas e larvicida (BENELLI, 2017; SARAIVA et. al., 2020), antifúngico (GUCWA, 2018; MOUTAOUAFIQ, 2019), efeitos antinociceptivo (HEYDARIE MIRAZI, 2016; CAN et. al., 2018), anticâncer (EL-GARAWANI et. al., 2019) e fotoprotetor (LOHANI et. al., 2019).

Em relação a produção de gerânio, sabe-se que, além de apresentar baixas concentrações de metabólitos secundários, diversos fatores podem influenciar em sua composição química, quando o cultivo é submetido a diferentes condições ambientais (SHARNOUBY, 2019). Fazendo-se necessário observar as características genéticas da planta, as condições edafoclimáticas e o manejo da cultura, bem como os fatores bióticos e abióticos, pois estes podem alterar a produtividade, as características morfoanatômicas e o teor e rendimento de óleo essencial da espécie (SZUTT et. al., 2019; RIAHI et. al., 2020).

No entanto, são necessários mais estudos sobre os fatores de produção em busca de condições estratégicas eficientes de manejo da planta com vistas à elaboração de um sistema de produção de alto rendimento (THAKUR et. al., 2019).

Segundo a ANVISA (2016), a produção comercial ideal de plantas medicinais é aquela que se fundamenta em sistemas sustentáveis. Tal proposta está de acordo com as normas da Farmacopeia Europeia, que estabeleceu limites para as quantidades de resíduos

tóxicos em produtos vegetais comercializadas e utilizados como matéria prima para a produção de fitoterápicos (PH. EUR., 2016). O uso deliberado de agroquímicos em função de maiores rendimentos no cultivo para produção de moléculas bioativas é controverso, devido ao impacto negativo destes na saúde humana e no meio ambiente (RIahi et. al., 2020). Assim, torna-se necessário aperfeiçoar o sistema de cultivo em busca de características desejáveis de metabólitos secundários das plantas, tendo sempre em mente a responsabilidade socioambiental.

Diferentes formas de cultivo sustentáveis, denominadas “cultivos alternativos” ou “cultivos regenerativos”, são conhecidas e tem-se demonstrado eficazes como modelos de produção, como por exemplo, a agricultura orgânica e agricultura biodinâmica (MIKLÓS, 2000; ASSIS et. al., 2002, ONG E LIAO, 2020).

Tais sistemas são englobados pelo conceito de agroecologia e visam maximizar a reciclagem de energia e nutrientes, estabelecer menor dependência possível de insumos externos e empregar métodos de manejo integrados e tratos culturais alternativos, desta forma, sendo suprimido o uso de agroquímicos (GLIESSMAN, 2005; BENGTTSSON et al., 2005; SANTOS et al., 2013; LETOURNEAU E BOTHWELL, 2008; TITTARELLI, 2020). Além da visão de agricultura democrática, participativa e com a perspectiva de inclusão social e econômica, juntamente a interações entre plantas, animais, humanos e meio ambiente, buscando a máxima preservação de recursos naturais e o apelo a sobrevivência das futuras gerações (ALTIERI et al., 2015; FAO, 2018).

Na busca pelo desenvolvimento de tecnologias agrícolas sustentáveis, o uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) também tem sido opção na substituição de agroquímicos. Estas bactérias, nativas nos solos e nas plantas, apresentam mecanismos naturais, diretos e indiretos, para o aumento da produção agrícola sem interferir no equilíbrio ambiental, enquadrando-se nos critérios da lei vigente (Lei no 10.831, de 23 de dezembro de 2003), a chamada “Lei dos Orgânicos”, a qual discrimina e regulariza tais sistemas de produção (BRASIL, 2003).

Desta forma, a fim de contribuir com o desenvolvimento de métodos sustentáveis e produtivos de *Pelargonium graveolens*, objetivou-se avaliar os efeitos de fontes de adubação no crescimento agrônômico, teor, rendimento e composição química de óleo essencial, bem como a influencia das mesmas nas características dos pigmentos fotossintéticos foliares e anatômicas da espécie.

CAPÍTULO 1

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sustentabilidade na agricultura e o cultivo de plantas medicinais

A temática sustentabilidade está inserida em discussões que tangem o mundo da mídia, o mundo acadêmico e a sociedade, sendo sua prática um desafio a se enfrentar com urgência. Desde os anos 90, governantes e cientistas têm-se unido em conferências internacionais visando propostas de desenvolvimento sustentável no intuito de construir um equilíbrio entre consumo e consumismo, utilização consciente dos recursos naturais e ainda o comprometimento com a produção agrícola e suprimentos demandados pela população mundial. Sendo este *trade-off* um grande paradigma a ser considerado, tendo em vista as futuras gerações (GRUMBACH E HAMANT, 2020).

A atividade exploratória de recursos naturais é de fato fundamental para o desenvolvimento da sociedade moderna. Desta forma, faz-se necessário repensar o método desenfreado da atuação antrópica que tem comprometido todo equilíbrio do ecossistema. Atualmente, foi demonstrado que a massa construída excede a biomassa natural do planeta, ou seja, o que foi fabricado pelo ser humano superou toda vida vegetal e animal, tendo os recursos naturais afetados sem precedentes no século XXI (ELHACHAM et. al., 2020).

Dentre estas ações antrópicas, a expansão da fronteira agrícola a partir de monocultivos intensivos e o uso indiscriminado de agroquímicos trazem consigo grande parte da responsabilidade nas alterações da dinâmica do ambiente. Desde a revolução agrícola, foi reduzida cerca da metade da massa de plantas nativas (aproximadamente duas teratoneladas). Em função da utilização predominante deste método de cultivo agrícola, denominado “cultivo convencional”, um alto preço vem sendo pago por diversos âmbitos socioambientais (ODUM E BARRETT, 2008; ONG E LIAO, 2020, ELHACHAM et. al., 2020).

De acordo com Gliessman (2005), o progresso da produtividade agrícola deve-se sobretudo aos avanços tecnológicos. Entretanto, foram copiosos os danos ambientais ocasionados pela agricultura industrial, expressos pelo desmatamento, degradação dos solos, contaminações em geral (fontes hídricas, atmosféricas, ambientes naturais), aumento na incidência de pragas e doenças, eliminação de insetos e microrganismos benéficos, diminuição drástica da biodiversidade da fauna e flora e ainda danos irreparáveis à saúde de

agricultores e assalariados agrícolas, além do aumento da emissão global de gases de efeito estufa (GGE) (principalmente o CO₂, CH₄ e N₂O) pelos quais detectou-se a modificação nos padrões do clima da Terra, ou seja, a ocorrência da mudança climática (MAPA, 2017).

De acordo com o IPCC (Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas) percebe-se que a cada ano há o aumento da frequência e intensidade de eventos extremos de curta duração associados ao desgaste da natureza, sendo estes as grandes secas ou chuvas drásticas, ondas de frio e calor intensos e vendavais.

Vale ressaltar também a questão da contaminação do produto final consumido/manipulado diretamente por toda sociedade. De acordo com Lopes e Albuquerque (2018) em seu levantamento, foram incluídos 116 estudos que demonstraram o impacto negativo dos agrotóxicos na saúde humana e ambiental. Dentre estes impactos à saúde, são apontados como depressores do sistema nervoso central, responsáveis por alterações celulares – neoplasia, alterações hormonais, infertilidade, má formação de fetos, abortos e perda auditiva. Os autores ainda ressaltam serem desconhecidos os efeitos da exposição crônica e simultânea a diferentes classes de agrotóxicos.

Diante deste cenário, em contrapartida às medidas do sistema de cultivo convencional, emergiram movimentos agrícolas em diversos países que promovem sistemas de cultivos baseados em princípios ecológicos. Hoje estes sistemas são denominados como “cultivos alternativos” (ASSIS et. al., 2002; ONG E LIAO., 2020) e fazem parte do conceito de agroecologia, que de acordo com Gliessman (2005) consiste no estudo dos processos econômicos de produção, o qual age em mudanças no valor social da agricultura e interações ecológicas complexas.

De maneira geral, tais sistemas de cultivo visam maximizar a reciclagem de energia e nutrientes, estabelecer menor dependência possível de insumos externos e empregar métodos de manejo integrados e tratamentos culturais alternativos, desta forma, sendo suprimido o uso de agroquímicos (GLIESSMAN, 2005; BENGTTSSON, 2005; SANTOS et al., 2013; LETOURNEAU E BOTHWELL, 2008; TITTARELLI, 2020). Além da visão de uma agricultura democrática, participativa e com a perspectiva de inclusão social e econômica, juntamente a interações entre plantas, animais, humanos e meio ambiente; buscando a máxima preservação de recursos naturais e o apelo a sobrevivência das futuras gerações (ALTIERI et al., 2015; FAO, 2018).

Segundo Campanhola e Valarini (2001), os sistemas alternativos de produção podem ser agrupados em cinco grandes vertentes: agricultura biodinâmica, agricultura biológica, agricultura natural, agricultura orgânica e permacultura. Ainda segundo os autores, estes

sistemas surgiram simultaneamente, porém em locais distintos e totalmente independentes entre si. Apesar de comungarem do mesmo propósito de promoção da agricultura saudável e respeito ambiental, eles apresentam particularidades nas propostas de manejo.

A tabela 1 apresenta características que distinguem os sistemas de cultivos alternativos:

Tabela 1: Características que distinguem os sistemas de cultivos alternativos.

TIPO DE SISTEMA	CARACTERÍSTICAS
Agricultura Biodinâmica	Surgiu na Alemanha, pelo filósofo e cientista Rudolf Steiner, apresenta ligação direta entre natureza e as forças cósmicas, tratando a unidade produtiva como um organismo único em harmonia; utiliza de preparados específicos no manejo da produção e de calendário astronômico.
Agricultura Biológica	Surgiu na França, pelo médico Hans Peter Rush que ampliou os conceitos de Howard (agricultura orgânica). Visa à maximização dos processos naturais em prol da produção e o enriquecimento do solo através de várias fontes de matéria orgânica, além da autonomia dos produtores e dos sistemas de comercialização do produto final. Segundo os colaboradores da agricultura biológica, uma planta saudável, bem nutrida, possui uma composição equilibrada, tornando-se uma estrutura compacta que dificilmente será atacada por pragas e doenças.
Agricultura Natural	Surgiu no Japão, pelo movimento filosófico-religioso, denominado Mokiti Okada, resultante na organização da Igreja Messiânica. Teve influencia do fitopatologista Masanobu Fukuoka, que preconizou a menor alteração possível da ordem natural dos ecossistemas, propondo o método “não fazer nada” e que condenou a aração do solo, aplicação de inseticidas e adubos químicos e até mesmo a utilização de esterco. Utilizam microrganismos benéficos na produção vegetal e animal, conhecidos pela sigla de EM (microrganismos eficientes). É um sistema que toma totalmente a natureza como modelo.

Agricultura Orgânica	Surgiu na Inglaterra, por Albert Howard, observador da agricultura na Índia e cultura hinduísta resultante no desenvolvimento do conceito de composto. Baseia-se na aplicação no solo de resíduos orgânicos vegetais e animais, com o objetivo de manter o equilíbrio biológico e a ciclagem de nutrientes.
Permacultura	Surgiu na Austrália, pelo idealizador Bill Mollison e colaboradores. Permacultura significa “agricultura permanente”. O movimento desenvolveu-se na ideia da criação de agroecossistemas sustentáveis através da simulação dos ecossistemas naturais, ocupando até mesmo assuntos urbanos, a partir da construção de cidades ecologicamente adaptadas, associando práticas ancestrais com a modernidade.

Fonte: (KHATOUNIAN, 2001) adaptada pela autora.

Vale ainda ressaltar um conceito pertinente proposto por Lutzenberger (1998) na Conferência Brasileira de Agricultura Biodinâmica que sugeria a mudança da denominação dos cultivos alternativos para agricultura regenerativa. Segundo o autor, quando se trata de vida, seja bom ou mau, tudo é orgânico ou biológico; quando se trata de alternativa, não necessariamente significa que seja algo bom, seria apenas diferente. Mas quando se propõe o termo regenerativo, claramente compreende-se algo que passa por recuperação por ter sido perdido ou destruído (MIKLÓS, 2000).

Independente da denominação, durante um longo período, a agricultura sustentável foi taxada como retrógrada, sendo marginalizada, em função da alta produtividade do cultivo convencional. No entanto, as bases científicas da pesquisa agrícola atual estão fortemente direcionadas ao desenvolvimento de tecnologias sustentáveis, como no caso do controle biológico pelo manejo integrado de pragas e doenças, uso de microrganismos na agricultura e manejo adequado do solo (BORGES FILHO, 2005; LEHTIMÄKI et. al., 2019).

No Brasil, a década de 70 foi marcada pelo início do movimento de agricultura alternativa. E assim como em outros países, o movimento contestava o modelo de desenvolvimento difundido pela Revolução Verde e criticava as tecnologias adotadas no processo de modernização da agricultura brasileira, tanto por seu impacto ambiental como social; e ainda propunha o uso de outras tecnologias menos impactantes. Desde então o

movimento tem crescido e se organizado a partir de congressos, encontros, companhias, programas, decretos e leis (CIAPO, 2020).

Nos últimos dez anos, o número de produtores orgânicos registrados no país triplicou (figura1). Também houve o crescimento do número de unidades de produção orgânica no Brasil, saindo de 5,4 mil unidades registradas, em 2010, para mais de 22 mil em 2019, uma variação de mais de 300%, demonstrando uma tendência de crescimento permanente. Desta forma, entende-se como de grande importância a expansão dos sistemas de cultivos alternativos, a partir pesquisas científicas que visam contribuir com o desenvolvimento de métodos de produção agroecológicos cada vez mais eficazes, promovendo a sustentabilidade nos cultivos realizados nos biomas brasileiros (MAPA, 2019).



Figura 1: Número de produtores orgânicos registrados no Brasil nos últimos sete anos.
Créditos imagem: Fonte: Mapa/2019. <http://www.agroecologia.gov.br/noticia/em-7-anos-triplica-o-n%C3%BAmero-de-produtores-org%C3%A2nicos-cadastrados-no-minist%C3%A9rio-da-agricultura>).

Em relação ao cultivo de plantas medicinais, de acordo com a ANVISA (2016), o manejo ideal seria por sistemas de cultivo sustentáveis. Tal proposta está de acordo com as normas da Farmacopeia Europeia, que estabeleceu limites para as quantidades de resíduos tóxicos em produtos vegetais comercializados e utilizados como matéria prima para a produção de fitoterápicos (Ph. Eur., 2016). O próprio consumidor não espera encontrar resíduos de produtos químicos indesejados ao procurar meios de melhoria para sua saúde. Além do fato de que, o uso deliberado de agroquímicos em função de maiores rendimentos no cultivo para produção de moléculas bioativas é controverso, devido ao impacto negativo destes na saúde humana e no ambiente (RIAHÍ et. al., 2020).

O Brasil também conta com o respaldo da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Um trabalho interministerial, em que se tem regulamentado o manejo e cultivo de plantas medicinais. O fruto deste trabalho foi o Programa Nacional de Plantas Medicinais e

Fitoterápicos que visa “garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2015).

Desde então, dentre os diversas diretrizes que regem o Programa, apresenta-se algumas como: desenvolver a pesquisa, tecnologias e inovações em plantas medicinais nas diversas fases da cadeia produtiva; promover a formação técnico-científica na área; estabelecer mecanismos de incentivo ao desenvolvimento sustentável das cadeias produtivas de plantas medicinais e fitoterápicos, com vistas ao fortalecimento da indústria farmacêutica nacional, incremento das exportações de fitoterápicos ou insumos relacionados às plantas medicinais e o estabelecimento de uma política para o desenvolvimento socioeconômico na área de plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2015).

Tais diretrizes justificam e vem de encontro com a necessidade de pesquisas científicas que validem o tema manejo e cultivo sustentável de plantas medicinais, a fim de contribuir com a adoção de boas práticas de cultivo e manipulação das plantas medicinais, um mercado promissor que tem se demonstrado em grande expansão no Brasil e no mundo.

2.1.1 Cultivo orgânico

No início do século XX o inglês Albert Howard, observou na Índia e na cultura hinduísta que agricultores não utilizavam nenhuma forma de insumos químicos na produção animal e vegetal, ao contrário, utilizava-se subprodutos para preparar uma forma de mistura. Os subprodutos básicos para estas formulações constituíam-se de dejetos animais, sobras de culturas, cinzas e plantas espontâneas, que eram responsáveis por todo vigor da produção e imunidade às pragas e doenças (KHATOUNIAN, 2001).

O resultado desta mistura consiste no que hoje é denominado composto orgânico. E a partir destes conhecimentos, foi desenvolvida uma forma de cultivo específica, denominada agricultura orgânica; primeiramente na Inglaterra e posteriormente disseminada nos Estados Unidos. A agricultura orgânica desde então teve estipulado como princípio básico a aplicação de resíduos orgânicos vegetais e animais no solo, com o objetivo de manter o equilíbrio biológico e a ciclagem de nutrientes (SANTOS et. al., 2001; MENDONÇA, 2001; ONG E LIAO, 2020).

Inicialmente pelas observações de Sir Albert Howard, a matéria orgânica era a grande responsável por manter o solo fértil e posteriormente outros pesquisadores como Primavesi

(2008) corroboraram estes ensinamentos apresentando como fundamental um solo “vivo” e rico em nutrientes para o equilíbrio da produção. Verifica-se que a adubação orgânica torna disponíveis as plantas, elementos como nitrogênio, fósforo e potássio; promove o aumento de matéria orgânica do solo e maior capacidade de retenção de água; diminui as perdas por erosão; favorece o controle biológico devido à maior população microbiana, aumenta a capacidade de troca catiônica, eleva o pH, reduzindo o teor de alumínio trocável (PRIMAVESI, 2008)

Desta forma, a prática de cultivo orgânico tem sido uma alternativa promissora na substituição de agroquímicos ante a preocupação com as questões de sustentabilidade. Caminhando para além de uma simples mudança de insumos agrícolas, mas para um redesenho transformador dos sistemas agrícolas com base em princípios agroecológicos. Sendo considerada uma arte, em que o produtor ou pesquisador precisa compreender o cultivo e o organismo que o rodeia tendo em mente todos os fatores envolvidos na produção (KIEHL, 1985; VEJA et. al., 2019; TITTARELLI et. al., 2020).

2.1.2 Cultivo biodinâmico

A Agricultura Biodinâmica surgiu com o filósofo e cientista Rudolf Steiner com base na filosofia da Antroposofia em 1924. Ele proferiu oito conferências para agricultores e técnicos europeus, visando solucionar problemas na agricultura industrial, com recomendações de fertilização do solo e nutrição das plantas. Para Steiner “adubar consiste em vivificar a Terra”, com base nesta afirmação ele formulou preparados com diversos elementos para serem utilizados no plantio, ajudando as plantas na sua tarefa de serem órgãos de percepção da terra (ABD, 2018).

Segundo a Associação de Brasileira de Biodinâmica (2018), os preparados podem ser considerados remédios homeopáticos devido à formulação natural em quantidades mínimas, aos processos de dinamização e desempenho a partir de forças e não das substâncias. Os preparados são elaborados a partir de plantas medicinais, esterco e silício (quartzo), que são enterrados no solo inseridos em órgãos animais e submetidos às influências da Terra. Eles são classificados em dois grupos; os pulverizados no solo e nas plantas, e os inoculados em composto ou outras formas de adubos orgânicos, sendo enumerados de 500 a 508, uma forma de códigos que facilitam a comunicação internacional (ABD, 2018).

O movimento da Agricultura Biodinâmica hoje existe no mundo todo e baseia-se, do mesmo modo que a Agricultura Orgânica, em conceber a propriedade agrícola como um

organismo vivo, respeitando a presença de animais, priorizando a vivificação do solo pela adubação verde e compostagens, considerando as interações dos seres vivos com o cosmo a partir de calendários e ciclos astronômicos que visam estimular as forças vitais (STEINER, 2000).

Basicamente a agricultura biodinâmica visa compreender a propriedade agrícola como um organismo vivo formado por elementos como o solo, vegetais, animais, recursos naturais e seres humanos. Levando em consideração três fatores: o ciclo das substâncias e forças; as inter-relações entre os componentes e a localidade; e a organização da empresa agropecuária. Sua principal meta é a fertilização duradoura do solo baseada na promoção da atividade biológica e modificação das condições físicas e químicas do solo; não só pelas práticas comumente aplicadas à agricultura orgânica, mas também reconhecendo que a saúde do solo, do mundo vegetal, animal e do próprio ser humano dependem de um relacionamento mais amplo entre as forças que estimulam os processos naturais (KOEPPF, 1983).

Nos últimos anos, tem-se observado um progresso na pesquisa sobre agricultura biodinâmica. Apesar do pouco conhecimento acerca dos conceitos que a norteia (CASTELLINI et. al., 2017), há diversas pesquisas científicas comparativas entre a agricultura convencional, orgânica e biodinâmica, com finalidade de debater a viabilidade produtiva e econômica, bem como as adaptações necessárias para se obter maior rendimento paralelamente ao desenvolvimento sustentável. E assim construir estratégias de cultivo cada vez mais concisas que favoreçam a adesão de produtores a transição agroecológica (ALTIERI et al., 2017; ONG E LIAO, 2020).

De acordo com o Instituto Biodinâmico (2018), produzir pelas bases da agricultura biodinâmica consiste nos critérios de garantia da proteção do solo e fertilidade, promovendo a atividade biológica; moderado uso de maquinários; garantia da nutrição do solo de forma natural, sem utilização de fertilizantes químicos; autossuficiência em nitrogênio a partir de leguminosas, inoculações de bactérias, reciclagem de matéria orgânica vegetal e esterco no solo; rotação de cultura para controlar doenças e pragas garantindo a diversidade genética e ação de inimigos naturais; quando se trata de criação animal, zelar pelo bem-estar a partir de um bom tratamento sanitário, boa alimentação e condições que respeitem a vida. O Instituto ainda adverte que os impactos do sistema produtivo sobre o meio ambiente sejam ponderados, visando sempre à preservação da flora e a fauna e que as condições de trabalho na comunidade sejam adequadas para o desenvolvimento humano dos trabalhadores.

Todo este processo acontece fundamentalmente a partir da utilização dos preparados biodinâmicos a base de ervas medicinais, esterco e sílica, aplicados em doses homeopáticas,

equilibrando o sistema solo-planta-animal e a formação de um organismo agrícola sustentável.

A tabela 2 implica na especificação dos componentes que compõe os preparados biodinâmicos.

Tabela 2: Componentes de preparados biodinâmicos

COMPONENTES DE PREPARAÇÕES BIODINÂMICAS

500	Esterco de vaca fermentado em um chifre de vaca enterrado no solo por seis meses até o outono e inverno.
501	Sílica de quartzo em pó embalado dentro de um chifre de vaca e enterrado no solo por seis meses desenterrado na primavera.
502	Flor de Yarrow (<i>Achillea millefolium</i>) fermentadas no solo
503	Flor de camomila (<i>Matricaria</i> sp.) fermentadas no solo
504	Chá de urtiga (<i>Urtica</i> sp.)
505	Casca de carvalho (<i>Quercus</i> sp.) embalada no crânio de um animal doméstico
506	Flor de dente-de-leão (<i>Taraxacum officinale</i>) embalado em mesentério (parte do intestino) de vaca
507	Extrato de flores de valeriana (<i>Valeriana officinalis</i>)
508	Chá de cavalinha (<i>Equisetum arvense</i>)
Fladen	Considerado um “preparado acessório” elaborado com esterco fresco misturado ao pó de basalto e cascas de ovos trituradas, utilizando-o juntamente aos preparados 502 ao 507.

Fonte: (KOEPF et al., 1986; CHALKER-SCOTT et. al., 2014) adaptado pela autora.

De acordo com Phillips e Rodriguez (2006) pesquisar sobre agricultura biodinâmica deu aos autores um novo respeito e visão sobre o tema. Segundo os pesquisadores os agricultores biodinâmicos não são como os outros agricultores convencionais. Estes são um grupo de pessoas que cultivam plantas, frutas e vegetais com a crença de que eles possuem uma conexão especial com a terra. Eles cultivam com a intenção de fertilizar também suas almas. Em outras palavras, os agricultores biodinâmicos não consideram suas plantações como itens de consumo, mas sim como agricultura que estimula seus espíritos que estão ligados ao meio ambiente. Os alimentos biodinâmicos não se comparam aos alimentos convencionais porque não são produzidos com o mesmo cuidado, pelo contrário, este sistema agrícola a partir de suas crenças visa um crescimento moral acima do valor de mercado tradicional.

Apesar do foco da prática da agricultura biodinâmica não ser a produtividade, um levantamento feito por Rauta e Fagundes (2014), mostra uma série de pesquisas que buscam compreender a resposta agrônômica do solo aos preparados biodinâmicos e como eles afetam a qualidade do produto agrícola, como mostra a tabela 3.

Tabela 3: Principais resultados obtidos na utilização do método de cultivo biodinâmico

Aspecto observado	Resultado	Fonte
Quantidade, massa seca, textura	Maior do que em sistemas convencionais	Granstedt e Kjellenberg (1996);
Proteína	Mais eficiente	Piamonte (1996).
Decomposição enzimática e bacteriana	Maior resistência	
Produção	Levemente menor	Petterson (1972) citado por Koepf,
Proteínas, vitamina C e A e betacaroteno	Altos teores e mais concentrado	Petterson e Schaumann (1983); Piamonte (1996).
Armazenamento e resistência a parasitas	Menores perdas (em percentual) e maior resistência	
Cozimento (homogêneo); melhor sabor (consistente); valor nutritivo (maior)	Melhores índices	Koepf, Petterson; Schaumann (1983); Sixel (2003).
Solos	Maior qualidade biológica, física e química	Reganold e Palmer (1995).
Aspectos econômicos e energéticos	Maior rentabilidade; melhor eficiência energética; maior saldo de energia	Miklós et al. (1999); Ramos (2004).

Fonte: (RAUTA E FAGUNDES, 2014).

Segundo Turinek et al. (2009), a agricultura biodinâmica tem ganhado grande visibilidade principalmente diante das adversidades ambientais enfrentadas como a mudança climática e escassez de recursos naturais, indicando ser um sistema mais resiliente, diversificado e eficiente, sendo um método de cultivo viável, digno de estudos detalhados.

Maiores conhecimentos sobre fundamentos gerais da biodinâmica e sua aplicabilidade desenvolvido por Rudolf Steiner, no Brasil, são encontrados nas publicações da Associação Brasileira de Agricultura Biodinâmica e do Instituto Biodinâmico, e por autores como Wistinghausen (1997), Koepf et al. (1986) e Piamonte (1996).

2.1.3 *Azospirillum brasilense* e as bactérias promotoras de crescimento em plantas

Outro caminho para a sustentabilidade agrícola encontra-se na microbiota natural do solo. Em busca de aprimorar formas de cultivos sustentáveis em qualidade e quantidade, tem se intensificado as pesquisas voltadas à inoculantes microbianos eficazes na produção agrícola e a otimização da relação entre microrganismos e plantas. O que garante o aproveitamento desta atividade natural presente na rizosfera, sem recorrer a insumos químicos, visto que o uso excessivo de fertilizantes tem se tornando uma séria ameaça aos ecossistemas naturais apresentando alto impacto ambiental (FERREIRA et. al., 2008; WANG et. al., 2018).

O solo e as plantas naturalmente são colonizados por inúmeras espécies de microrganismos. Dentre eles conhece-se tanto os fitopatôgenos, responsáveis por diversos danos às culturas; como a população microbiana benéfica às plantas. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) fazem parte desta população microbiana benéfica, tendo demonstrado eficiência na promoção direta do crescimento a partir da produção de ácido cianídrico, fitohormônios, enzimas, disponibilização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumento da absorção pelas raízes das plantas (LAZAROVIT E NOWAK, 1997). Atuando ainda como agentes protetores contra patógenos no controle biológico, pela produção de bacteriocinas e antibióticos; tudo isto pela competição por espaço; estimulando a indução de resistência e proteção cruzada (MARIANO, 2004).

Dentre as bactérias promotoras de crescimento, as do gênero *Azospirillum*, ganharam grande destaque a partir da década de 1970, devido a capacidade de fixação de nitrogênio, descoberta pela pesquisadora da Embrapa Johanna Döbereiner (1924-2000). A capacidade de fixar nitrogênio foi responsável pela mudança de em seu nome científico, que de *Spirillum*

passou a ser adicionado o prefixo “azo”, nome utilizado por Lavoisier para denominar o elemento nitrogênio (HUNGRIA, 2011).

Estudos com *Azospirillum brasilense* têm demonstrado resultados positivos quanto ao crescimento radicular, ocasionado pelo o aumento da assimilação de nitrato disponível no solo e a fixação biológica de nitrogênio, conseqüentemente maior desenvolvimento agrônômico das plantas. Em um trabalho realizado com mirtilos, a inoculação favoreceu o crescimento de ramos vegetativos, aumentou o número de folhas e a área foliar das plantas. A produção por planta e a produtividade das plantas inoculadas também foram superiores à produção da testemunha e ainda apresentou maior quantidade de frutos, com maior massa. Corroborando com os diversos dados da literatura que relatam a bactéria como estimulante do crescimento e desenvolvimento de plantas (MOMOLI, 2018).

Em testes realizados por Coelho et. al. (2018), a inoculação com *A. brasilense* elevou a produtividade de milho em solos com baixa fertilidade, sendo considerada uma alternativa para aumentar produtividade de culturas em áreas marginais, com reduzida adubação e, ou baixo nível tecnológico. Em solos caracterizados por uma fertilidade elevada, o efeito da inoculação foi nulo, sugerindo-se que a maior disponibilidade de nitrogênio e a diversidade de microrganismos já teriam realizado no solo os possíveis efeitos da bactéria.

Estudos realizados com o cultivo de tomates, bananas e morangos têm demonstrado que a inoculação promoveu o rendimento agrícola, estimularam o crescimento das plantas, conseqüentemente gerando maior rentabilidade por área de cultivo do produtor (ALFONSO et. al., 2005; BORA et. al., 2016; BUBANZ et. al., 2017).

Em plantas medicinais, trabalhos demonstram que BPCP influenciam no crescimento e desenvolvimento, biossíntese de metabólitos secundários, aumento da absorção de nutrientes, crescimento e desenvolvimento agrônômico de diversas espécies (PEREIRA et. al., 2019). Bem como a tolerância a estresses e aumento da síntese fitoquímica de compostos de interesse farmacológico como observados em *Foeniculum vulgare Mill* (MAHFOUZ E SHARAF-ELDIN, 2007), em *Rauwolfia serpentina* (RAI et al., 2017) e melhor desempenho no óleo essencial de *Matricaria chamomilla L.* (DASTBORHAN et al., 2012).

Em relação a espécie *Pelargonium graveolens*, Riahi et al. (2020) observaram resultados promissores em testes isolados ou em consórcio, o efeito de três bactérias promotoras de crescimento de plantas (*Pseudomonas rhizophila*, *Halomonas desertis* e *Oceanobacillus iheyensis*). Os resultados foram significativamente positivos nos parâmetros relacionados ao crescimento, biomassa foliar e radicular, pigmentos fotossintéticos e produção de metabólitos

secundários. As bactérias foram capazes de elevar mais de 40% a biomassa foliar comparadas ao grupo controle. No entanto, não foi observado na literatura indexada nas principais bases de dados, estudos acerca de inoculação de *A.brasilense* em *P. graveolens*, sendo este um dos objetivos do presente estudo.

2.2 *Pelargonium graveolens* L'Hér

2.2.1 Caracterização botânica

Dentre os diversos gêneros que compõe a família Geraniaceae compreende-se o gênero *Pelargonium*; sendo notória a espécie *Pelargonium graveolens*, devido ao aroma de rosas, adocicado, com notas cítricas e mentoladas, proveniente do óleo essencial presente em suas folhas (SZUTT et. al., 2019).

A espécie é nativa da África do Sul, conhecida popularmente por malva cheirosa ou gerânio. Sendo descrita como um arbusto ereto que pode alcançar até 1,3m de altura, muito ramificado atingindo cerca de 1 m de diâmetro. Os caules jovens em fase ainda herbácea são densamente vilosos, mas tornam-se lenhosos apresentando crescimento secundário conforme o envelhecimento. Suas folhas são palmatipartidas/palminérveas, ou seja, que apresenta recortes que atingem a vizinhança do ponto peciolar, também são vilosas e macias ao toque. As margens dos segmentos foleares são irregulares. Apresentam grande número de tricomas glandulares e não glandulares (VAN DER WALT, 1988). As flores são esbranquiçadas a roxas-rosadas, formadas por inflorescências de 5 a 10 flores, as pétalas superiores são estreitas com ápice arredondada apresentando nervuras rosa-arroxeadas e estames com anteras atrofiadas raramente portando pólen. Sendo estas muito valorizadas no paisagismo (LIS-BALCHIN et. al., 2002).

Os tricomas presente no *Pelargonium graveolens* são estruturas de grande importância, visto que são responsáveis pelo armazenamento de seu óleo essencial. A espécie apresenta seis tipos diferentes da estrutura. A morfologia dos tricomas glandulares está frequentemente relacionada ao tipo de composto químico dele secretado. Nas plantas, a secreção de tais compostos desempenha funções como atrair polinizadores ou proteção contra predadores (BOUKHRIS, 2013).

2.2.2 Caracterização agrônômica

Em geral as espécies de *Pelargonium* são de fácil cultivo. Apresentam boa adaptação em diversos tipos de solos. Há relatos até mesmo de sobrevivência em solos com presença de metais pesados, podendo ser classificada como espécie fitorremediadora (PANDEY, 2019). O gerânio se propaga facilmente através de estaquia. As estacas podem ser retiradas da parte superior da haste, onde se encontra gema apical, ou simplesmente utilizam-se partes fracionadas da haste como um todo. Propagando as mudas, tanto em casa de vegetação, para replante após enraizamento, quanto através de plantio diretamente em campo. Temperaturas amenas são desejáveis durante o manuseio das plântulas, podendo variar de acordo com o país. As plantas são consideradas resilientes; resistentes à seca e alta temperatura, bem como ao ataque de pragas e doenças. Além da característica de rebrota após a colheita, o que torna interessante seu cultivo, sendo possível produzi-la durante o ano todo (BLEROT, 2016).

Os fatores ambientais e os diversos tratos culturais (propagação, plantio, localização, fertilização, irrigação, controle de doenças/plantas espontâneas e colheita) sofridos pelas plantas durante o cultivo influenciam diretamente em suas características morfológicas e fisiológicas. Podendo então variar o rendimento da biomassa da planta, quantidade e características fitoquímicas de óleo essencial produzido em suas folhas (SWAIN, 1974, SANGWAN et. al., 2001). Sendo necessário otimizar estes parâmetros e o manejo para alcançar produtividade e lucratividade (SZUTT et. al., 2019).

O cultivo de *Pelargonium graveolens* é geralmente em monocultura, mesmo havendo relatos de sucesso quando se trata de consorciação com outras espécies (BLEROT, 2016). A densidade entre plantas está diretamente correlacionada com seu rendimento e produtividade. Segundo o autor Blank (2012), o espaçamento 50x50cm apresentou melhores resultados quando analisados os valores totais de biomassa fresca e seca de folhas e caules e rendimento de óleo essencial, que são características de interesse direto para o mercado.

Diversos estudos relatam a utilização de produtos químicos, macro e micronutrientes via solo e via foliar no cultivo de gerânio (BLEROT, 2016). Faz-se necessário então, observar a legislação para produção de plantas medicinais; discriminar os produtos autorizados de não autorizados no momento do planejamento do manejo da cultura. Visto que a RDC nº 26/2014 aprovou fiscalização periódica de resíduos químicos na comercialização de produtos a base de plantas medicinais, vigente desde 2018 (BRASIL, 2020).

2.2.3 Bioatividade de *Pelargonium graveolens*

A espécie *Pelargonium graveolens* tem sido utilizada há muitos anos. Desta forma, o gerânio é cultivado e comercializado como uma importante planta aromática no que tange a indústria da perfumaria, cosméticos, alimentos e farmacêutica. Seus compostos apresentam vasta gama de bioatividades benéficas relatadas pela medicina popular bem como diversos trabalhos científicos na literatura (SZUTT et. al., 2019), conforme listados na tabela 4.

Tabela 4: Lista de trabalhos apontando bioatividade de compostos químicos de *Pelargonium graveolens*.

Utilização	Indicação	Autor/ano
Óleo essencial	Candidíase oral	Ferreira et. al., 2021
Óleo essencial	Candidíase vaginal (<i>Candida</i> spp.)	Dos Santos et. al., 2020
Folhas frescas/ Óleo essencial	Antimicrobiano	Dorman et. al., 2000; Mazzei., 2020
Óleo essencial	Biopesticida, repelente	Saraiva et. al., 2020
Óleo essencial	Conservante de alimentos	Kujur et. al., 2020
Óleo essencial	Fotoproteção	Lohani et. al., 2019
Óleo essencial	Fitorremediação em poluição aquática	Rahman, 2020
Óleo essencial	Rejuvenescimento facial	De Oliveira et. al., 2019
Óleo essencial	Antifúngico	Moutaouafiq et. al., 2019; Gucwa, 2018
Óleo essencial	Anticâncer	El-Garawani et. al., 2019

Óleo essencial	Anestésico	Can, 2018
Óleo essencial	Hiperglicemia; adstringente, diurético, antidiabético, antioxidante, antifúngico e combate a infecção de amígdalas e bactericida	Hamidpour et. al., 2017; Boukhatem et al., 2013
Óleo essencial	Larvicida	Benelli, 2017
Extrato das folhas	Antinocipativo	Heydari e Mirazi, 2016
Óleo essencial	Saúde da mulher (menopausa e sintomas de tensão pré menstrual) e antiespasmódico	Masullo, 2015
Óleo essencial	Inseticida	Baldin et. al., 2015
Óleo essencial	Doenças neurodegenerativas	Elmann et. al., 2010

Fonte: Elaborado pela autora.

Segundo Masullo (2015), há relatos da utilização de gerânio em tratamentos para saúde da mulher, no alívio das sensações da menopausa e sintomas relacionados a menstruação. O óleo essencial também apresenta significativa atividade no combate de candidíase vaginal (*Candida spp.*) (DOS SANTOS, 2020). Bem como no tratamento da hiperglicemia; como adstringente, diurético, antidiabético, antiespasmódico (estomacais e menstruais), antioxidante, antifúngico e combate a infecção de amígdalas (bactericida) (MASULLO, 2015; HAMIDPOUR et. al., 2017).

Foi registrado alto potencial antimicrobiano na espécie, sendo relatados o uso de folhas frescas de gerânio diretamente na pele, bem como uso do seu óleo essencial no controle de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp., *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*; bactérias gram-negativas responsáveis por grande parte das doenças humanas. Também apresentou efeitos inibitórios em grupos de bactérias gram-positivas como *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Estes resultados sugerem potenciais terapias complementares disponíveis para aliviar a carga de antibióticos e retardar a progressão da resistência a bactérias (DORMAN et. al., 2000; MAZZEI, 2020). Seu potencial bactericida também levou a resultados positivos do óleo essencial para controle de patógenos presente nos alimentos. O que diminuiu o índice de depreciação dos mesmos e consequentemente elevou o tempo de conservação e de prateleira (BOUKHATEM et al., 2013).

De acordo com Saraiva (2020), o óleo essencial de gerânio apresenta efeito repelente e também grande potencial como biopesticida para o controle de *Musca domestica* e *Lucilia cuprina*, insetos considerados grandes vetores de agentes etiológicos tanto para humanos como animais. Ainda segundo a autora, tais resultados abrem um leque interessante a ser estudado sobre o uso do óleo no manejo de pragas, podendo este ser uma alternativa para inseticidas químicos. Visto que outros trabalhos também apontam um potencial larvicida da espécie (BENELLI et. al., 2017)

Assim como citado por Baldin et al. (2015), em estudo realizado com óleo essencial de gerânio, foi demonstrado bioatividade contra mosca-branca (*Bemisia tabaci*), uma espécie relatada por ser responsável por altas perdas econômicas em soja, feijão, amendoim, algodão e plantas ornamentais; além do fato ser considerada resistente a inseticidas convencionais em função de repetidas aplicações. Os resultados demonstraram que o óleo essencial reduziu significativamente o número de insetos adultos, sendo testados também, o geraniol e o citrionelol, componentes químicos do óleo, separadamente, resultando no citrionelol como o metabólito mais eficaz. Em testes de fumigação, o óleo essencial de *P. graveolens* causou 100% de mortalidade em concentrações de 0,5 L L⁻¹ no ar. Sugerindo que o óleo essencial e seus componentes químicos são potencialmente aplicáveis para desenvolver compostos de controle de pragas baseados em produtos naturais.

Pode-se relatar ainda atividades antifúngicas no óleo essencial de gerânio, exibindo alta atividade contra diversas linhagens de fungos como *Coniophora puteana*, *Coriolus versicolor*, *Poria placenta* e *Gloeophyllum trabeum*. Tal valor pode ser explorado para geração de novos fungicidas, especialmente na proteção da madeira (MOUTAOUAFIQ et. al., 2019). Contra fungos *Candida albicans* e *Candida glabrata*, o óleo apresentou efeito

fungicida ou fungiestático impedindo a transição da levedura para forma de micélio (GUCWA, 2018).

Também foi relatada atividade antifúngica e inibidora de aflatoxina, uma das principais micotoxinas contaminantes de alimentos e prejudiciais à saúde humana. Testes feitos com óleo essencial de gerânio nanoencapsulado aplicados em grãos de milho contaminados demonstraram excelentes resultados no controle da toxina, além de ter mantido efetivamente todas as propriedades organolépticas (cor, sabor, odor e textura) e nutricionais dos alimentos modelo (grãos de milho). Desta forma sugere-se que óleo essencial de gerânio pode ser usado como conservante de alimentos para melhorar a vida útil das mercadorias e evitar contaminações humanas (KUJUR, 2020).

Outro estudo realizado apresentou o uso de óleo essencial de gerânio como redutor da poluição aquática. O óleo tem capacidade de minimizar a disponibilidade de resíduos tóxicos nos tecidos de peixes que, conseqüentemente atingem os seres humanos ao consumirem. Os resultados dos testes com óleo de gerânio demonstraram impactos sobre a toxicidade do PFF (profenofos provenientes de agrotóxicos organofosfatados amplamente utilizado na agricultura), protegendo as funções hepato-renais, parâmetros imunológicos e estresse oxidativo em peixes, portanto, um candidato valioso a ser utilizado como complemento na aquicultura (RAHMAN, 2020).

Efeitos anti-nociceptivo também são descritos. Testes a partir de movimentação e torção da cauda de camundongos demonstraram grande efeito analgésico do extrato das folhas de gerânio (HEYDARI E MIRAZI, 2016). Assim como efeito anestésico no óleo essencial testado em peixes de aquário (CAN, 2018). O que se faz sugerir que os compostos da espécie que afetam diretamente o sistema opióide (HEYDARI E MIRAZI, 2016).

Testes *in vitro* também relataram uma interessante atividade fotoprotetora do óleo essencial de gerânio, associado a dosagens de óleo essencial de calêndula (*Calendula officinalis*). O que permite a combinação em novas formulações cosméticas com interesse em fator de proteção solar (LOHANI et. al., 2019). Além de estudos demonstrando que capacidade de regeneração e manutenção do tecido cutâneo agindo como *antiaging*, antirrugas, homogeneizador e clariador da pele (DE OLIVEIRA et. al., 2019).

Em combinação com o óleo essencial de *Foeniculum vulgare* (funcho), o óleo essencial de gerânio apresentou propriedades anticâncer. Estudos mostraram que a mistura de óleos exerceu citotoxicidade seletiva para células MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) através da indução de parada do ciclo celular e apoptose, que pode ter sido desencadeada pelo efeito sinérgico entre os ingredientes ativos das espécies (EL-GARAWANI et. al., 2019).

Em doenças degenerativas do sistema nervoso central, como Alzheimer, desenvolvidas a partir da ativação de células secretoras de fatores pró-inflamatórios, e mediadores de neuroinflamação e morte celular neural, como o óxido nítrico; foi observado que o óleo essencial de gerânio, que encontram maior concentração de citrionelol, inibiu o óxido nítrico em cultura de células ativadas. O que se sugere que o citrionelol ou o sinergismo entre os compostos químicos do óleo essencial de gerânio pode ser benéfico na prevenção e tratamentos de doenças neurodegenerativas causadas por neuroinflamação (ELMANN et. al., 2010).

Segundo Asgarpanah e Ramezanloo (2015), em estudos etnobotânicos, o uso de gerânio foi considerado milenar e ancestral. Empregado pela medicina tradicional em forma de chá das folhas, das raízes, mastigação e consumo *in natura*. Além de inúmeras formas de preparo e manuseio da planta com fins terapêuticos relatados pela medicina popular. De acordo com Organização Mundial da Saúde (OMS), ainda hoje, mesmo com avanço da indústria farmacêutica, 65-80% da população de países em desenvolvimento dependem das plantas para a atenção primária à saúde. Sabe-se ainda que 25% dos componentes biológicos ativos das drogas sintéticas, foram primeiro identificados em plantas medicinais. Demonstrando a força do conhecimento empírico e sua importância tanto no âmbito social, como norteando pesquisas de desenvolvimento de produtos.

Desta forma, entende-se como de grande importância estudos acerca de tal espécie, no intuito de fornecer base para futuras pesquisas sobre o seu manejo e cultivo sustentável bem como a aplicação de seus compostos bioativos. Favorecendo a expansão do mercado e fortalecendo consumo das mesmas ante a tantos benefícios para saúde humana e ambiental.

Referências

- ALFONSO, E.T.; LEYVA, Á.; HERNÁNDEZ, A. Microrganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para o cultivo do tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). **Colombian Journal of Biotechnology**, 7 (2), 47-54, 2005.
- ALTIERI, M.A.; NICHOLLS, C.I.; MONTALBA, R. Technological approaches to sustainable agriculture at a crossroads: an agroecological perspective. **Sustainability**, 9 (3), 349, 2017.
- ALTIERI, M. A.; NICHOLLS, C. I.; HENAO, A.; LANA, M. A. Agroecology and the design of climate change-resilient farming systems. **Agronomy for sustainable development**, 35(3), 869-890, 2015.

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Análise de resíduos de agrotóxicos em fitoterápicos**. 1ª edição, Brasília, 13 de outubro, 2016.
- ASSIS, R. L. de. **Agroecologia no Brasil**: análise do processo de difusão e perspectivas. 173f. Tese (Doutorado em Economia Aplicada) – Instituto de Economia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BIODINÂMICA (ABD). Disponível em <https://biodinamica.org.br/>. Acesso em: 09 jun. 2020.
- ASGARPANA, J., RAMEZANLOO, F. Phytopharmacology summary of *Pelargonium graveolens* L., 2015.
- BALDIN, E. L.; AGUIAR, G. P.; FANELA, T. L.; SOARES, M. C.; GROppo, M.; CROTTI, A. E. Bioactivity of *Pelargonium graveolens* essential oil and related monoterpenoids against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. **Journal of pest science**, 88(1), 191-199, 2015.
- BENGTSSON, J.; AHNSTRÖM, J.; WEIBULL, A. C. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. **Journal of applied ecology**, 42(2), 261-269, 2005.
- BENELLI, G. Acute larvicidal toxicity of five essential oils (*Pinus nigra*, *Hyssopus officinalis*, *Satureja montana*, *Aloysia citrodora* and *Pelargonium graveolens*) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus*: Synergistic and antagonistic effects. **Parasitology international**, 66.2: 166-171, 2017.
- BLANK, A. F. Espaçamento de plantio e intervalos de colheita na biomassa e no óleo essencial de gerânio. **Horticultura Brasileira**, 30.4: 740-746, 2012.
- BLEROT, B. Botany, agronomy and biotechnology of *Pelargonium* used for essential oil production. **Phytochemistry reviews**, 15.5: 935-960, 2016.
- BORA, L.; TRIPATHI, A.; BAJELI, J.; CHAUBEY, A.K.; CHANDER, S. A review on microbial association: its potential and future perspectives in fruit trees. **Plant Arch**, 16 (1), 1-11, 2016.
- BORGES FILHO, E. L. **Da redução de insumos agrícolas à agroecologia: a trajetória das pesquisas com práticas agrícolas mais ecológicas na EMBRAPA**, 2005.
- BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; SAIDI, F. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. **Food Control**, 34.1: 208-213 2013.

- BOUKHRIS, M. Trichomes morphology, structure and essential oils of *Pelargonium graveolens* L'Hér. (Geraniaceae). **Industrial crops and products**, 50: 604-610, 2013.
- BUBANZ, H. C. S.; RAMOS, R. F.; BETEMPS, D. L. Crescimento e produção de morangueiro através do uso de *Trichoderma*, *Clonostachys rosea*, *Azospirillum* e da incorporação de silício. **Anais da VII Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica - VII JIC**. UFFS, Rio Grande do Sul, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos**. – 1. ed., 2. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 26, DE 13 DE MAIO DE 2014. Acesso em 23 de abril de 2020.
- BRASIL. Lei de agricultura orgânica nº 10831 DE 23 DE DEZEMBRO DE 2003.
- CAN, El. Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. **Aquaculture**, 491: 59-64 2018.
- CAMPANHOLA, C.; VALARINI, P. J. A agricultura orgânica e seu potencial para o pequeno agricultor. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, 18, 69-101 2001.
- CASTELLINI, A.; MAURACHER, C., & TROIANO, S. An overview of the biodynamic wine sector. **International Journal of Wine Research**, 9, 1-11, 2017.
- CHALKER-SCOTT, L. The Science behind Biodynamic Preparations: A Literature Review. **Better Crops**, 98, 2, 24, 2017.
- CIAPO (2020). Câmara Interministerial de Agroecologia e Produção Orgânica. Acesso em 03 de fevereiro 2021. <http://www.agroecologia.gov.br/politica>.
- COELHO, S. P. *Azospirillum brasilense* no sistema de plantio direto orgânico e convencional de milho. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, 2018.
- DASTBORHAN, S.; ZEHTAB-SALMASI, S.; NASROLLAHZADEH, S.; TAVASSOLI, A. R. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria and nitrogen fertilizer on yield and essential oil of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). **International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants IMAPS2010 and History of Mayan Ethnopharmacology**, 121-128, 2011.
- DE OLIVEIRA, R. K. B., SARMENTO, A. M. M. F. O uso dos óleos essenciais de gerânio e junípero no rejuvenescimento facial. **Diálogos em Saúde**, 2(1), 2020.

- DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of applied microbiology**, 88.2: 308-316, 2000.
- DOS SANTOS, M. K. A chitosan hydrogel-thickened nanoemulsion containing *Pelargonium graveolens* essential oil for treatment of vaginal candidiasis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 56: 101527, 2020.
- EL-GARAWANI, I.; EL NABI, S.H.; NAFIE, E.; ALMELDIN, S. *Foeniculum vulgare* and *Pelargonium graveolens* essential oil mixture triggers the cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 cells. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, 19 (9), p. 1103-1113, 2019.
- ELHACHAM, E.; BEN-URI, L.; GROZOVSKI, J. The global mass produced by man exceeds all living biomass. **Nature** 588, p. 442-444, 2020.
- ELMANN, A.; MORDECHAY, S.; RINDNER, M., & RAVID, U. Anti-neuroinflammatory effects of geranium oil in microglial cells. **Journal of Functional Foods**, 2(1), 17-22, 2010.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA. Pesticide residues. General chapter 2.8.13. Ph. Eur., 9th edition. Council of Europe, Strasbourg, France, 2016.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The 10 elements of agroecology, 2018.
- FERREIRA, E. D. S., ROSALEN, P. L., BENSO, B., de CÁSSIA ORLANDI SARDI, J., DENNY, C., ALVES DE SOUSA, S., DIAS DE CASTRO, R. The Use of Essential Oils and Their Isolated Compounds for the Treatment of Oral Candidiasis: A Literature Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2021.
- FERREIRA, E.P.; DUSI, A.N.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. Rhizosphere bacterial communities of potato cultivars evaluated through PCR-DGGE profiles. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43, 605-612, 2008.
- GLIESSMAN, S. R. Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, Rio Grande do Sul, 2005.
- GRUMBACH, S.; HAMANT, O. How can humans coexist with Earth? The case of suboptimal systems. **Anthropocene**, 100245, 2020.
- GUCWA, K. Investigation of the antifungal activity and mode of action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* essential oils. **Molecules**, 23.5: 1116, 2018.
- HAMIDPOUR, R. *Pelargonium graveolens* (Rose Geranium) -A novel therapeutic agent for antibacterial, antioxidant, antifungal and diabetics. **Arch Cancer Res**, 5: 1-5, 2017.
- HEYDARI, N.; MIRAZI, N. Study of antinociceptive effects of *Pelargonium graveolens* L. leaves hydroethanolic extract in male mice. **Armaghane danesh**, 20.11: 972-984, 2016.

- HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja-Documentos** (INFOTECA-E), 2011.
- IBD. Instituto Biodinâmico. Disponível em: <<http://www.ibd.com.br>>. Acesso em: 09 jun. 2020.
- KIEHL, J.E. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, São Paulo 1985.
- KHATOUNIAN, C. A. A. **Reconstrução ecológica da agricultura**. Botucatu: Agroecológica, São Paulo, 2001.
- KOEPF, H. H.; PETTERSSON, B. D.; SCHUMANN, W. **Agricultura biodinâmica**. São Paulo: Nobel, 1986.
- KUJUR, A.; KUMAR, A.; YADAV, A.; PRAKASH, B. Antifungal and aflatoxin B1 inhibitory efficacy of nanoencapsulated *Pelargonium graveolens* L. essential oil and its mode of action. **LWT**, 109619, 2020.
- LAZAROVITZ, G.; NOWAK, J. Rhizobacterium for improvement of plant growth and establishment. **Hortscience** 32, 188-192 1997.
- LEHTIMÄKI, T. Making the difference. Building relationships between organic and conventional agriculture in Finland in the rise of organic agriculture. **Sociologia Ruralis**, 59 (1), 113-136, 2019.
- LETOURNEAU, D. K., BOTHWELL, S. G. Comparison of organic and conventional farms: challenging ecologists to make biodiversity functional. **Frontiers in Ecology and the Environment**, 6(8), 430-438, 2008.
- LIS-BALCHIN, M. Gerânio e Pelargonium: os gêneros Geranium e Pelargonium. **Taylor e Francis**, 2002.
- LOHANI, A.; MISHRA, A. K.; VERMA, A. Cosmeceutical potential of geranium and calendula essential oil: Determination of antioxidant activity and in vitro sun protection factor. **Journal of cosmetic dermatology**, 18(2), 550-557, 2019.
- LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, 42: 518-534, 2018.
- MAHFOUZ, S. A.; SHARAF-ELDIN, M. A. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **International Agrophysics**, 21, 361 2007.
- MAPA. Ministério de agricultura, agropecuária e abastecimento. Acesso em 14 de janeiro de 2021. <http://www.agroecologia.gov.br/noticia/em-7-anos-triplica-o-n%C3%BAmero-de-produtores-org%C3%A2nicos-cadastrados-no-minist%C3%A9rio-da-agricultura>), 2019.

- MAPA (2019). (Ministério de Agricultura e Abastecimento) <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/plano-abc> <acesso: 01/06/2020>
- MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, 1, 89-111, 2004.
- MASULLO, M. **Medicinal plants in the treatment of women's disorders: Analytical strategies to assure quality, safety and efficacy**. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 113: 189-211, 2015.
- MAZZEI, R. Uma revisão do potencial antimicrobiano de medicamentos fitoterápicos usados na medicina popular italiana (décadas de 1850 a 1950) para tratar doenças bacterianas da pele. **Jornal de Etnofarmacologia**, 250: 112443, 2020.
- MIKLÓS, A. A. W. A dissociação entre homem e natureza - Reflexos no desenvolvimento humano. **Anais da IV Conferência Brasileira de Agricultura Biodinâmica**, USP- São Paulo, 2000.
- MOMOLI, L. W. **Crescimento e desenvolvimento de plantas de mirtilo, cultivar clímax, inoculadas com *Azospirillum brasilense***, 2018.
- MOUTAOUAFIQ, S. Antifungal Activity of Pelargonium graveolens Essential Oil and its Fractions Against Wood Decay Fungi. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 22.4: 1104-1114, 2019.
- ODUM, E. P.; BARRETT, G. W. **Fundamentos de Ecologia**. São Paulo: Cengage Learning, 33, 2008.
- ONG, T. W. Y.; LIAO, W. Agroecological transitions: a mathematical perspective on a transdisciplinary problem. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 4, 91, 2020.
- PANDEY, J. Effect of tannery sludge amendments on the activity of soil enzymes and phytoremediation potential of two economically important cultivars of geranium (*Pelargonium graveolens*). **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, 28.4: 395-410 2019.
- PEREIRA, M.M.A.; MORAIS, L.C.; MARQUES, E.A.; MARTINS, A.D.; CAVALCANTI, V.P.; RODRIGUES, F.A.; GONÇALVES, W.M.; BLANK, A. F.; PASQUAL, M.; DÓRIA, J. Humic Substances and Efficient Microorganisms: Elicitation of Medicinal Plants—A Review. **Journal of Agricultural Science**, 11(7): p.268-280, 2019.

- PHILLIPS, J. C.; RODRIGUEZ, L. P. Beyond Organic: An Overview of Biodynamic Agriculture with Case Examples, Selected paper prepared for presentation. **American Agricultural Economics Association Annual Meeting**, 23 – 26, 2006.
- PRIMAVESI, A. Agroecologia e manejo do solo. **Revista Agriculturas**, 5, .7-10, 2008.
- RAI, A.; KUMAR, S.; BAUDDH, K.; SINGH, N.; SINGH, R. P. Improvement in growth and alkaloid content of *Rauwolfia serpentina* on application of organic matrix entrapped biofertilizers (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas putida*). **Journal of Plant Nutrition**, 40, 2237-2247, 2017.
- RAHMAN, A. N. A. The ameliorative role of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil against hepato-renal toxicity, immunosuppression, and oxidative stress of profenofos in common carp, *Cyprinus carpio* (L.). **Aquaculture**, 517: 734777, 2020.
- RAM, M; RAM, D.; ROY, S. K. Influence of an organic mulching on fertilizer nitrogen use efficiency and herb and essential oil yields in geranium (*Pelargonium graveolens*). **Bioresource technology**, 87.3: 273-278, 2003.
- RAMOS, R. F. Comparações produtiva, econômica e energética de sistemas convencional, orgânico e biodinâmico de cultivo de batata-doce (*Ipomoea batatas*) (Dissertação de mestrado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Campus de Botucatu, 2004.
- RAUTA, J.; FAGUNDES R. J.; SEHNEM, S. Gestão ambiental a partir da produção biodinâmica: Uma alternativa à sustentabilidade em uma vinícola catarinense. **Revista de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, 3, 135-154, 2014.
- RIAHI, L.; CHERIF, H.; MILADI, S.; NEIFAR, M.; BEJAOU, B.; CHOUCANE, H.; CHERIF, A. Use of plant growth promoting bacteria as an efficient biotechnological tool to enhance the biomass and secondary metabolites production of the industrial crop *Pelargonium graveolens* L'Hér. Under semi-controlled conditions. **Industrial Crops and Products**, 154, 112721, 2020.
- SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant growth regulation**, 34(1), 3-21., 2001.
- SANTOS, J. O.; SANTOS, R. M. S.; FERNANDES, A. A. Os sistemas alternativos de produção de base agroecológica. **Revista ACSA**, 9, 1-8, 2013.
- SANTOS, R. H. S.; MENDONÇA, E. de. S. **Agricultura Natural, Orgânica, Biodinâmica e Agroecologia**. Informe agropecuário, 22, 5-8, 2001.
- SARAIVA, L. C. Insecticidal and repellent activity of geranium essential oil against *Musca domestica* and *Lucilia cuprina*. **International Journal of Tropical Insect Science**, 1-6 2020.

- SHARNOUBY, E.; AZAB, E.; ALOTAIBI, S. S.; SALEH, D. Influence of air temperature and soil moisture on growth and chemical composition of geranium plants. **Pakistan Journal of Botany**, 51(1), 97-102, 2019.
- STEINER, R. **Fundamentos da agricultura biodinâmica: vida nova para a terra**. 2. ed. - São Paulo: Antroposófica, 2000.
- SZUTT, A.; DOLHAŃCZUK-ŚRÓDKA, A.; SPOREK, M. Evaluation of chemical composition of essential oils derived from different *Pelargonium* species leaves. **Ecological Chemistry and Engineering**, 26(4), 807-816, 2019.
- SWAIN, R. **Aromatic pelargoniums**. *Arnold Arbor Harv Univ* 34:97–124, 1974.
- THAKUR, M.; BHATTACHARYA, S.; KHOSLA, P. K.; PURI, S. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 12, 1-12, 2019.
- TITTARELLI, F. Organic Greenhouse Production: Towards an Agroecological Approach in the Framework of the New European Regulation—A Review. **Agronomy**, 10(1), 72, 2020.
- TURINEK, M.; GROBELNIK-MLAKAR, S.; BAVEC, M.; BAVEC, F. Biodynamic agriculture research progress and priorities. **Renewable agriculture and food systems**, 24, 146-154, 2009.
- VAN DER WALT, J. J. A.; DEMARNE, F. E. *Pelargonium graveolens* and *P. radens*: a comparison of their morphology and essential oils. **South African Journal of Botany** 54.6, 617-622, 1988.
- VEGA, D.; GAZZANO SANTOS, M.I.; SALAS-ZAPATA, W.; POGGIO, S.L. Reviewing the concept of plant health from an agroecological perspective. **Agroecology and Sustainable Food Systems**, 44 (2), 215-237, 2020.
- WANG, Y.; ZHU, Y.; ZHANG, S.; WANG, Y. What could promote farmers to replace chemical fertilizers with organic fertilizers?. **Journal of cleaner production**, 199, 882-890, 2018.

CAPÍTULO 2

Technical and economic performance and sustainability of biodynamic farming systems - A review.

(Artigo estruturado e submetido na revista Industrial Crops and Products)

Abstract: Sustainability in agriculture has become a major international concern. Modern agriculture has led to increased greenhouse gas emissions, deforestation and systematic contamination of ecosystems, in addition to being responsible for compromising the health of the population due to the excessive use of agrochemicals. To mitigate such problems, research is being conducted to develop technologies that can, with minimal environmental impact, make agricultural production viable and develop the autonomy of producers, with future generations in mind. In this context, the objective of this review was to evaluate the technical and economic performance and the sustainability of biodynamic farming systems. The bibliographic survey was performed based on a search using the keywords biodynamic + agriculture e biodynamic + farming in the Scopus, Web of Science and Scielo databases. The objectives, results and conclusions of the articles were analyzed for this review, and duplicate studies or articles that were not related to the proposed topic were excluded. The reviewed studies involved topics such as soil quality, agronomic development, profitability, ideologies and political issues. Based on the literature review, biodynamic farming systems are related to an increase in biodiversity in general, both in terms of the ecology and changes in the landscape in which it was applied, and in improvements in the soil due to the increase in microbiota and to physical-chemical changes, which may sometimes influence the characteristics of the final product. The studies also showed that this farming system is economically viable and sustainable. In this sense, biodynamic farming systems can be considered an alternative production technology, which, once improved and adapted to the individuality of each crop, have the potential to promote soil quality, productivity, the economy and sustainable development.

Keywords: Alternative agriculture; Regenerative agriculture; Agroecology, Rudolf Steiner.

1. Introduction

The topic of sustainability has been part of discussions in the most diverse spheres of society, and its practice is a challenge that needs to be met. Since the 1990s, governments and

scientists have come together to propose sustainable development strategies, aiming to achieve a balance between consumption and consumerism and the conscious use of natural resources. This trade-off is a great paradigm to be considered for future generations (GRUMBACH E HAMANT, 2020).

The exploitation of natural resources is essential for the development of modern society. However, it is necessary to rethink the unbridled anthropogenic actions that have affected the equilibrium of the entire ecosystem, for example, through the expansion of the agricultural frontier with the use of intensive monocultures and the indiscriminate use of agrochemicals. Such actions have been predominantly related to agricultural farming, called “conventional farming”, modern agriculture or industrial agriculture (ONG E LIAO, 2020).

The environmental damage caused by conventional agriculture, according to Gliessman (2005), is evidenced by soil degradation, general contamination (water sources, atmospheric sources, and natural environments), the increased incidence of pests and diseases, the elimination of insects and beneficial microorganisms, the decreased biodiversity of fauna and flora and damage to the health of farmers. In addition, there has also been an increase in greenhouse gas emissions (GGEs), which are considered to be responsible for climate change (MAPA, 2017).

In contrast to the conventional farming system and in line with sustainability principles, there are other systems known as “alternative farming” or “sustainable agriculture”, which are farming systems based on ecological principles (ONG E LIAO, 2020).

Such systems are grounded in the concept of agroecology and aim to maximize the recycling of energy and nutrients, establish less dependence on external inputs and employ integrated management methods and alternative crop management practices (GLIESSMAN, 2005; LETOURNEAU E BOTHWELL, 2008; TITTARELLI, 2020). In addition to the democratic agriculture perspective, the perspective of social and economic inclusion, together with the interactions between living beings and the environment, seeks the maximum preservation of natural resources. It is therefore supported by the triad economy, the environment and social development (ALTIERI, 2015; FAO, 2018).

Currently, there are a number of sustainable agriculture alternatives, each with its own history and definition of sustainability. Campanhola and Valarini (2001) grouped alternative production systems into five major categories: biological agriculture, natural agriculture, organic agriculture, permaculture and biodynamic agriculture.

Such categories include biodynamic agriculture developed in Germany in 1924 by the philosopher and scientist Rudolf Steiner based on Anthroposophy. For Steiner, “fertilizing

means vivifying the Earth”, and based on this statement, he formulated preparations with various natural elements to be used in planting (ABD, 2020).

According to the Brazilian Association of Biodynamic Agriculture (ABD), the preparations formulated by Steiner can be considered similar to homeopathic remedies, and their development is based on spiritual science and natural elements. The preparations can be classified into two groups, those sprayed on the soil and plants and those inoculated in compost or other forms of organic fertilizers, and are numbered from 500 to 508, a code that facilitates their international use. In addition, an astronomical calendar is used as a farming guide (ABD, 2020).

Basically, biodynamic agriculture aims to understand agricultural properties as living organisms formed by elements such as soil, plants, animals, natural resources and humans. It takes into account three factors: the cycle of substances and forces; the interrelationships between the components and the location; and the organization of the agricultural company. Its main goal is the lasting fertilization of the soil based on the promotion of biological activity and modification of the physical and chemical conditions of the soil, not only by the practices commonly used in organic agriculture but also by recognizing that the health of the soil, plants, the animal world and human beings themselves depends on a broader relationship among the forces that stimulate natural processes (KOEPPF, 1983).

In recent years, there has been progress in research on biodynamic agriculture. Despite little knowledge about the concepts that guide it (CASTELLINI, 2017), there are several scientific studies comparing conventional, organic and biodynamic agriculture, with the purpose of discussing their productive and economic viability, as well as the necessary adaptations to obtain greater income in the context of sustainable development. The goal is thus to build increasingly narrow farming strategies that favor the adherence of producers to agroecological transition (ALTIERI, 2017; ONG, 2020). Thus, the aim of the present study was to evaluate the technical and economic performance and sustainability of biodynamic farming systems.

2. Materials and Methods

The bibliographic survey was carried out through searches in the databases carried out in mid-December 2020, and this review was carried out as shown below (Figure 1)

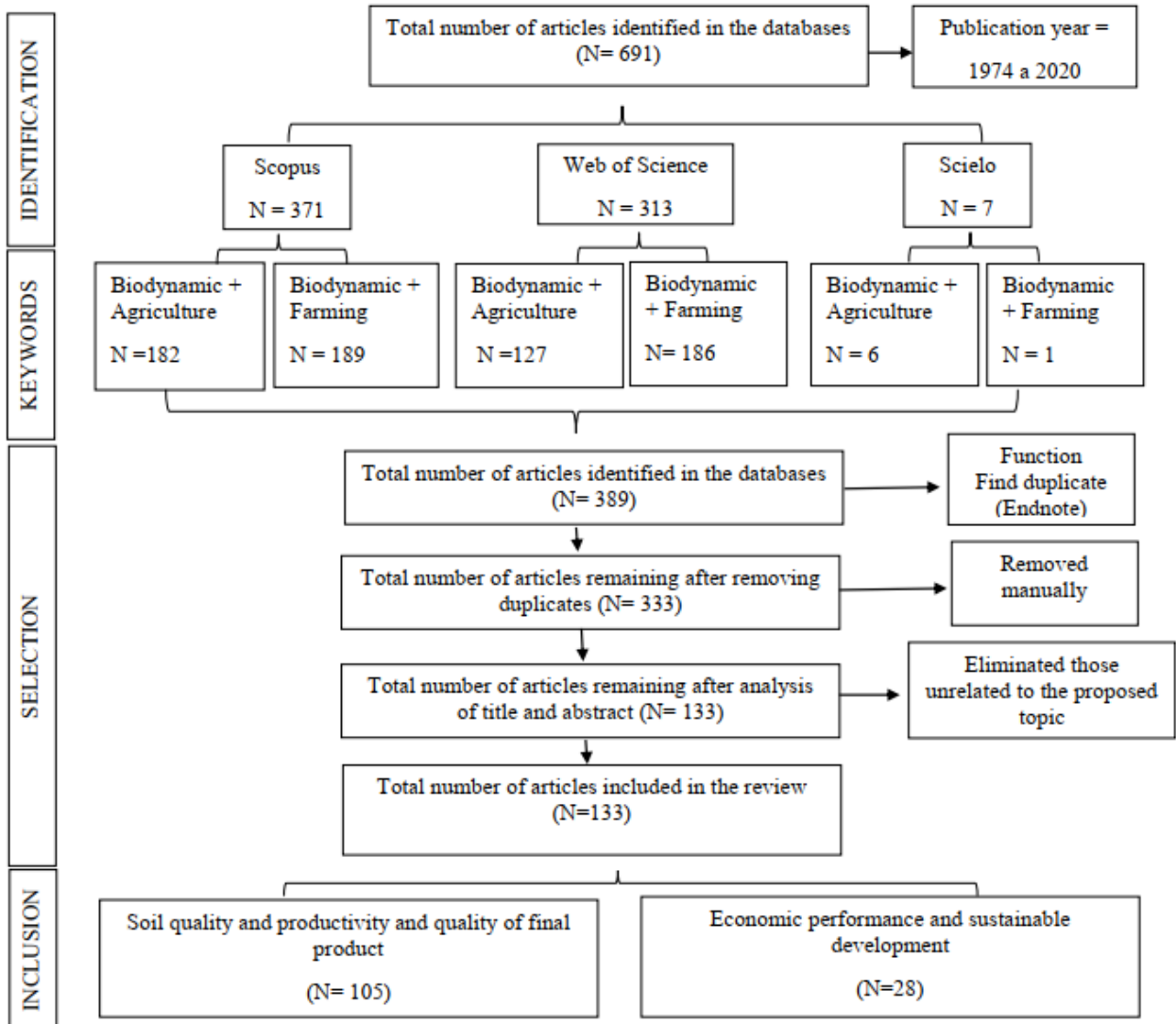


Figure 1: Explanatory flowchart of the development of the work methodology.

The works included at the end of the selection were organized and tabulated in the Excel® program to identify the positive and negative results to assemble the graphs presented later.

3. Results and Discussion

Soil quality, productivity and product quality in biodynamic farming systems

The first studies identified in the databases refer to the years 1974 and 1988. The authors evaluated crop yield and biodiversity in different farming systems. The yield results were negative, with the authors observing a considerable drop in productivity, while the fauna

was highly favored, as noted by the increase in biodiversity in biodynamic farming systems (SCHUPHAN, 1974, INGRISCH, 1988).

Starting in the 1990s, the studies found on biodynamic agriculture mostly evaluated soil quality compared to that in organic or conventional farming systems. The results were positive in most analyses, which characterized the biodynamic soils as being of high quality and showing high biological activity due to the presence of earthworms, beetles and arthropods; that is, biodynamic management showed characteristics that stimulated life in the soil. Contrasting results related to the ability of the soil to maintain its fertility without the use of chemical fertilizers were also observed, as well as an increase or decrease in the productivity of tested crops, such as potatoes and wheat (KOCH, G., 1991; FOISSNER, W., 1992; GRANSTEDT, A., 1992; REGANOLD, J. P., 1993; OBERSON, A. ET AL., 1993; RYAN, 1999 A; RYAN, 1999 B; PFIFFNER, L. MÄDER, P., 1997; MURATA, T., GOH, K. M., 1997; OBERSON, A. ET AL., 1996; DROOGERS, P. BOUMA, J., 1996; REGANOLD, J. P., 1995; NGUYEN, M. L. ET AL., 1995; NOLTE, C. WERNER, W., 1994; PFIFFNER, 1997; PFIFFNER, 1996).

Shortly afterwards, Carpenter-Boggs (2000) described that the soils and crops treated with biodynamic preparations showed few differences compared to untreated soils and crops. Only the application of organic compost (with or without biodynamic preparations) produced crop yields similar to those in which mineral fertilizers were provided. The study suggested that any additional short-term benefits of biodynamic preparations were questionable. Reeve (2005) reported no differences in soil quality in the first six years or in the yield analysis of grape species. However, the biodynamic treatments showed significantly higher Brix, total phenols and total anthocyanins, i.e., the farming system influenced the quality of products derived from grape production.

In studies of soil microbiota under different farming systems, it was observed by Hendgen (2018) that soil under conventional management exhibited significantly reduced bacterial species richness when compared to that of soils of an organic farming system. Conversely, a comparison between the soils of organic and biodynamic farming systems showed that the microorganism community was similarly rich. This finding confirms the results in a study by Morrison-Whittle (2017), who also reported that different farming methods significantly affected the communities present in the soil and plant structures in terms of the number, type and abundance of species. Similarly, Heger (2012) and Bougnom (2012) reported that the microbial properties of the soil (abundance, CO₂ production and biomass) improved under a biodynamic agriculture system.

According to Apama (2014), organic and biodynamic farming improved the biological characteristics of the soil through changes in its structure and as a function of the microbial community. According to the authors, these types of farming systems can be used to modify the environment and make soil ecosystems more sustainable. In addition, other analyses also showed improved available nitrogen levels as well as higher silt and clay contents in organic and biodynamic soils compared to conventional soils (COOKSON, 2006).

Another study comparing the effects of biodynamic management and organic management, this time testing the addition of green manure, demonstrated that the diversity and composition of microbial communities associated with biodynamic and organic farming systems were similar. The use of biodynamic preparations 500 and 501 did not cause any significant detectable change in the soil microbial community in the short term. Thus, it was suggested that the significant effects on soil microbiota were promoted by the action of green manure (LONGA et. al., 2017). This finding corroborates those reported by Faust (2017), who observed that the application of biodynamic preparations did not generate any additional benefits to those generated by composting fertilization. However, the bacterial analyses of the organic and biodynamic soil showed extremely significant bacterial content relative to that in the conventional system.

Kecskeméti (2016) used an ecological abundance indicator to analyze communities of fungi and bacteria associated/aggregated with grape berries (*Vitis vinifera* L.) obtained from conventional, organic and biodynamic vineyards at different stages of the ripening process. The author observed at first that there were no significant differences in the bacterial and fungal diversity or richness indices between management systems. However, in the last stage of grape ripening, the diversity index was significantly higher for fungal communities under biodynamic management than under conventional management. This highlights the importance of the transition period and of a sufficient application time for biodynamic preparations to promote the expected effects.

Further regarding soil tests, Cavallet (2015) reported that in biodynamic farming, the soil had a higher calcium (soluble) concentration and higher salinity, which may have been caused by the chemical composition of the biodynamic preparations. A study previously conducted by Condrón (2000) showed that the highest levels of organic matter and the biological activity of soils evaluated under different treatments were generally observed in alternative organic and biodynamic farming systems rather than conventional farming systems.

In tests performed with wheat crops, Geven (2013) observed the influence of the amount of nutrients on yield. According to the authors, both the biodynamic and organic systems exhibited a balanced supply of potassium and high fertilization intensity. Burkitt (2007) reported that greater sources of phosphorus are necessary to ensure future sustainability in biodynamic agricultural systems.

Due to limitations regarding the use of chemical fertilizers, it is worth emphasizing the importance of replacing sufficient amounts of nutrients in the soil to match the removal and losses during the crop production process. Without adequate production practices, alternative farming systems would become unsustainable due to nutritional losses at each harvest (CONDRON, 2000). Thus, it is valid to identify and develop techniques that constantly and adequately maintain the fertility of arable soil in the long term.

Regarding the wheat crop, all the organic, biodynamic and conventional systems compared showed unsatisfactory performance for the long-term soil quality parameters, indicating its degradation. Zorb (2006) also did not report extreme differences in the composition and quality of wheat grains tested in different farming systems. According to Bavec (2012b), wheat grown under biodynamic farming conditions initially presented the lowest yield. However, in analyses of ecological impact, organic and biodynamic systems were shown to be viable alternatives in reducing the impact of agriculture on environmental degradation and climate change. Despite improvements in antimicrobial activity, Berner (2008) also observed a reduction in wheat crop yield under biodynamic farming, but the long-term effects are unknown.

Nevertheless, in the case of wheat production, the comparative tests between the aforementioned crop systems showed that conventional farming altered the interactions within and between the soil and plant biomass components, promoting negative environmental impacts and reducing internal biological cycles and pest control. In contrast, sustainable agriculture improved the performance of microbial and faunal decomposers, thus increasing biological control and conservation. However, grain and straw yields were 23% lower, again reflecting the large trade-off between productivity and environmental responsibility (BIRKHOFER, 2008).

Experiments on pasture yield and productivity characteristics showed that biodynamic preparations were only moderately effective in increasing soil pH, with no effect on microbial activity or forage yield. However, in regard to the sustainability analysis, from an economic and plant and animal health viewpoint, the farm proved to be profitable and economically stable, and the animals were healthy. However, that does not discard the need for some source

of replacement of inputs in the future for production to be sustainable in the long term (REEVE, 2011), as already cited by other studies.

From the information of the analyzed articles, it is observed that the transition processes from conventional agriculture to an alternative agriculture, such as biodynamics, are progressive and their results are built over time, respecting the period of recomposition, regeneration and resumption of the environmental balance, depending on the condition of the study site.

Over the years of planting in biodynamic systems, despite improvements in the structure of the cultivated soils, with the increase in the microbiota and in the physicochemical and biological activities, part of the nutrients are lost because there is no chemical replacement; therefore, it is extremely important to seek nutritional replacement measures as a function of time and cultivation.

Results can sometimes be similar and other times be different, which can be justified by the experimental site, given that edaphoclimatic conditions directly influence soil and crop characteristics. In addition, the influence of the different evaluation technologies developed in each study should be considered. In this sense, it is suggested that long-term studies and representative environments may be more reliable, minimizing the risk of bias in the results.

Comparisons made in terms of agronomic development and product quality between organic, conventional and biodynamic farming systems for wine grapes (PARPINELLO, 2019) and apples (MAIS, 2017) have shown fruits with high quality in wine production and rich in secondary metabolites of commercial value and fruits with high nutritional value, respectively.

According to Patrignani (2017), the farming system affected the yeasts present in wines obtained from grapes under different treatments. In turn, in a study by Picone (2016), the farming system influenced the chemical composition of the grapes studied. In contrast, according to Gharwalová (2018), the farming system adopted (biodynamic or conventional) did not affect the antioxidant activity and polyphenolic content of samples of *Vitis vinifera*, and these compounds were a differentiating factor in wine production.

Other studies comparing production systems, performed with juice grapes, wine grapes, bell peppers and sunflowers, indicated that organic and biodynamic products have very similar compositions and functional properties but differ from conventional products. Thus, organic production was considered efficient for crop yield due to the improvements provided to the soil with the increase in the population of microorganisms. In turn, biodynamic practices alone did not have marked effects and performed best when combined

with organic farming practices (BASKAR, 2016; GRANATO, 2016; GRANATO, 2015; DÖRING, 2015).

This division between organic and biodynamic farming systems is difficult to compare and dissociate because they are intertwined. Currently, the efficiency of the use of organic compounds (organic farming) associated with biodynamic preparations is known, and this relationship between sustainable farming systems is indisputable. This association can be seen positively because the main objective is to gain productivity and profitability and achieve environmental protection. What matters is not the name of the farming system the producer uses but rather the result of efficient and sustainable work.

In potato cultivation, samples grown under a conventional system showed positive variations in crude protein amount, yield, cooking or tissue discoloration and extract decomposition. The potato samples grown under a biodynamic system were more positively related to traits such as quality index, dry matter content, taste quality, relative proportion of pure protein and biocrystallization value (MAYER, 2015; KJELLENBERG, 2015).

Studies of the compositional parameters of the seed oil of *Brassica napus* L. in different farming systems show that oil quality parameters were superior in organic and biodynamic production systems than in conventional systems, especially fatty acid and protein levels (TURINEK, 2017). In cabbage, the response to a biodynamic farming system was positive, and higher mineral contents were found under this system (BAVEC, 2012a).

This was also reported for the nutritional and phytochemical content of red beets. Although the control treatment (without any application) resulted in significantly higher values in the analyses performed, the biodynamic farming system ranked second in quality. The authors described difficulty in generating conclusions and emphasized the importance of taking into account the substantial influence of field conditions (BAVEC, 2010).

In guava cultivation, experiments were also performed to compare the efficacy of treatments with different agricultural inputs. The highest number of fruits (yield) occurred in the organic treatment, followed by the biodynamic treatment. The maximum soluble solids (SS) content was found in the biodynamic treatment, followed by the vermicompost treatment. The maximum values of carbon, iron, and potassium were also found in the biodynamic treatment. In contrast, the best nutrient absorption in the leaves occurred in the organic and vermicompost treatments (RAM, 2014).

In mangoes, the phytochemical characteristics (antioxidant activity, total phenolic compounds and flavonoids) of fruits were evaluated in different farming systems. The results

showed that mangoes from conventional systems had lower values for all parameters evaluated compared to fruits grown under organic and biodynamic systems (MACIEL, 2011).

In addition, compared to strawberry extracts obtained from fruits produced under a conventional system, extracts obtained from biodynamic systems exhibited greater antiproliferative activity against cancer cells (Caco-2), showing a markedly higher concentration of phenolic acids and slightly higher amounts of quercetin and kaempferol and higher antioxidant activity (D'EVOLI, 2010; TAROZZI, 2010). As observed in a coffee crop, the chemical constituents of roasted beans showed significant differences between the agricultural practices studied (BADMOS, 2020).

In studies carried out with rice (*Oryza sativa* L.), comparing different cropping systems, plants submitted to biodynamic treatment ranked third in grain yield. However, these were more resistant and were better classified in sensory parameters. In addition to increased soil quality and greater root development of plants subjected to this type of treatment (VALDEZ, 2008).

As reported by Heimler (2009) when studying *Cichorium intybus* L., in which no phytochemical differences were observed in the species subjected to different treatments, although there were no significant differences between the farming systems, organic and biodynamic farming systems produced good results, which is a significant result for those who place greater emphasis on environmental conditions.

In experiments performed on lettuce (*Lactuca sativa* L.), comparing the polyphenol content in and antioxidant activity of plants under different treatments, there were also no effects of the type of farming system. Regarding the quantitative differences, the yield was higher in the conventional farming system (HEIMLER, 2012).

As shown in the studies evaluated, biodynamic farming may have lower productivity, especially in the first years of production, due to the need to adapt the crop to the balance of the soil, landscape and agroecosystem as a whole. However, products farmed without chemical inputs have great market value; therefore, even with lower productivity while plants adapt to the new system, the producer may not experience losses. Therefore, prior planning, production cost control and market establishment are essential for those interested in commercial production.

More current studies showed generally positive results in plant growth experiments, in which small doses of biodynamic preparations promoted plant root growth, increased soil quality and increased the quality of the final product (DI GIACINTO, 2020; MORAU, 2020; KRAUSS, 2020; HENDGEN, 2020, FRITZ, 2020A, FRITZ, 2020B)

Among several studies and different responses to variations in soil, yield and productivity in the different farming systems mentioned, in general, organic matter is a determinant of positive production results. According to Shepherd (2003), the soil with the best characteristics was generally found in biodynamic and organic farms due to the fertilization and crop rotation. Moreover, according to the author, it is not the farming system itself that is important in promoting better physical conditions but rather the quantity and quality of organic matter that returns to the soil. That conclusion is in agreement with results reported by Brock (2019), who showed that biodynamic preparations are more efficient upon the application of organic compost.

Hartmann (2006) reported that the application of cattle manure had substantial effects on the content and structure of soil bacterial communities. Given these results, organic matter is indispensable in any farming system, and for each system, proper planning of organic matter replacement in the soil is needed.

In addition, other techniques adopted from sustainable agriculture, such as no-till or reduced tillage and crop rotation, combined with the use of organic compost and biodynamic preparations based on legislation, deserve special attention because they present excellent soil and productivity results when combined (GADERMAIER, 2012; NGOSONG, 2010; JOERGENSEN, 2010).

More research is needed and encouraged for the comparison and determination of food quality, food safety, environmental performance and effects of biodynamic farming practices on farms and animals (TURINEK, 2009; BROCK, 2019).

The great paradox between the quantity and quality of production in the different farming systems is real because the yield of the studied agroecological crop often decreases relative to conventional crops. However, as a benefit, spending on chemical and pesticide fertilizers and dependence on external products also decreases, generating autonomy for the producer, increasing the reuse of energy from the environment itself, and increasing soil quality, nutritional quality and taste of the final product, health of producers and consumers and quality of life in general.

Figure 2 provides the compiled data, showing the percentages of studies in which biodynamic agriculture presented a positive, negative or similar performance, with respect to soil quality, productivity and quality of the final product, when compared to that of other farming systems. The higher percentage of positive results is evident, exceeding 50% of the reviewed articles.

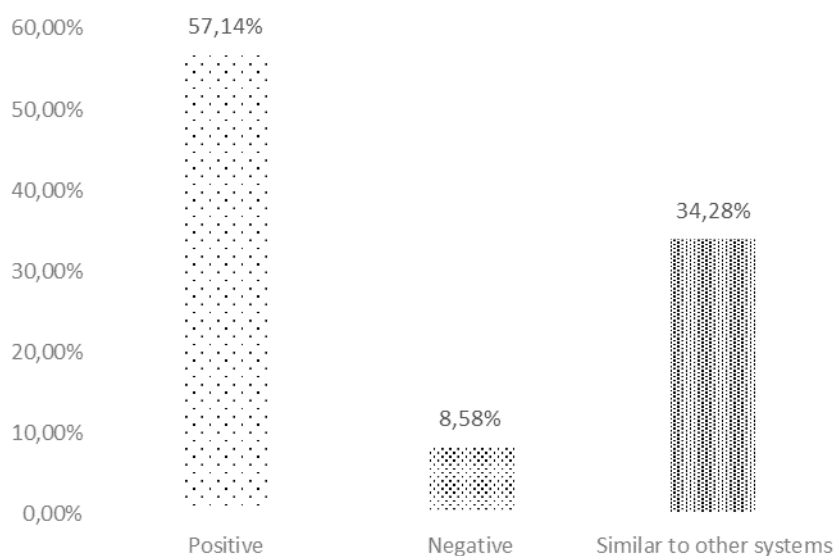


Figure 2: Capacity of biodynamic farming systems to promote soil quality, productivity and quality of the final product. **Source:** Prepared by the author.

Despite these results, there are still questions regarding the paradigm between productivity and sustainability. Although biodynamic production leads to improvements in soil and crop quality, there is not necessarily an increase in crop yield. However, what is currently expected from new agricultural technologies is not a frantic search for increased productivity as a function of profit, which nonetheless can lead to loss and waste. Rather, there is an incessant search for technologies that increase productivity and quality through production that is able to meet the current needs of society without compromising or bankrupting future generations.

Economic performance and sustainable development in biodynamic farming systems

Considering the need for productivity and profitability to be linked to sustainable agricultural practices, some studies aimed to evaluate financial and agronomic development indicators for biodynamic farming systems.

Penfold (1995) stated that there were significant economic differences between the farming systems studied, a finding that was evidenced when evaluating the economic returns and the levels of fertilization available in the soil. According to the author, biodynamic farming systems had the highest gross yield margins for crops, followed by the organic and conventional systems. However, the author considered it too early to state categorically that one system is more sustainable than another.

A study conducted by Forster (2013) analyzed data and information on the performance of cotton, soybean and wheat crops under organic, biodynamic and conventional agricultural systems in tropical and subtropical regions. The results suggested that on average, for all crops, conventional farming systems achieved significantly higher profit margins in cycle 1; however, in cycle 2, the margins were significantly higher for organic farming systems, followed by biodynamic systems, due to lower production costs but similar yields.

The authors also suggested that for soybean, organic production is a viable option for small farmers under semiarid conditions in the first cycle. In conclusion, the need for future research to elucidate the productivity, profitability and ecological impact of different agricultural systems in the long term was reported, given that short-term studies are unable to describe the complex process of agroecological transition (FORSTER, 2013).

The economic performance between soybean grown under biodynamic or conventional systems for seven years was compared in a case study that evaluated financial indicators (gross revenue, gross margin, net margin, net profit and capital income) and price equilibrium points between the different farming systems. The long-term study of the profitability of biodynamic versus conventional agriculture showed, in summary, that profits were 57% higher in biodynamic production than in conventional production, with all financial indicators being higher, thus indicating that biodynamic agriculture is more profitable (ROBUSTI, 2019).

In turn, in a study of soybean production developed by Tung (2007), an organic production system was more efficient, in addition to showing an increase in soil organic matter, earthworm population, seed yield and quality and net returns; the biodynamic system performed worse in their comparisons.

In a case study reported by Posner (2009), with the aim of documenting the trajectory of a successful alternative dairy farm under biodynamic management, the success of the farm was due to very solid agricultural management, good financial management and an entrepreneurial philosophy. The farm was highly profitable and environmentally healthy, and the families who lived on it had a good quality of life. This finding indicates that success is directly related to good practices, especially in alternative farming systems, which require individual practices that aim to maximize the efficiency and use of the internal energy of the farm.

In another study involving 389 farms that received subsidies from 2007 to 2012 (273 conventional farms, 112 organic farms and four biodynamic farms), the financial indicators, performance indicators, economic efficiency indicators, multidimensional comparison

methods between companies, and the impact of subsidies on the profits, sales and returns of the property indicators were evaluated by linear regression. The results showed that organic farms were the most profitable and obtained the best economic efficiency indicator results, surpassing the biodynamic and conventional farms (NAGLOVA, 2016).

A case study using a multicriteria method to evaluate economic, social and environmental parameters in farms using three farming methods, i.e., conventional, organic and biodynamic, showed that the degree of multifunctionality was more explicit in the biodynamic farm, which exhibited a better social structure (TROIANO, 2019).

According to Altieri (2017), studies on sustainable farming systems that do not also aim to evaluate the social development of producers, consumers and the local economy, can often become a disadvantage for agroecology. According to the author, agroecology transcends the reformist idea of “organic agriculture”, affirmed by the dominant conventional production system.

The proposal of sustainability goes beyond minor adjustments or “greening” of the current neoliberal agricultural model and beyond just modifying practices, such as reducing the use of agrochemical inputs. The desirable path to sustainability would include a redesign of the agricultural system in which there is autonomy and self-sufficiency. A true agroecological technological conversion questions the monoculture system and the dependence on external inputs. Thus, farms that adhere to biodynamic systems emerge as functional because they aim for maximum reuse of internal energy (ALTIERI, 2017). In this way, farms adept at biodynamic systems stand out as functional because they aim to maximize the reuse of internal energy.

For producers and entrepreneurs involved in the production, processing and distribution of organic and/or biodynamic foods, the elements that constitute a truly sustainable community consist of contributing to economic, social and ecological development. They point out that the key to success depends on a high level of trust, engagement, the adoption of common standards, reciprocity between entrepreneurs and stable demand both from consumers at home and at the municipal level (LARSSON, 2012).

A case study presented by Ingram (2007) demonstrated that alternative agricultural networks are formed by a broad spectrum of political and ethical attitudes, brought together by the common sense that agricultural science needs to do a better job of observing, responding to, and working together with nature.

Another study that considered the point of view of biodynamic producers on the sociology and knowledge of the understanding of agriculture indicated that biodynamic producers

showed a desire to maintain the purity of their ideals and agricultural practices. They take on the role of trying to change the wider agricultural system by leading by example and “bearing witness” to the ideas of biodynamics and putting them into practice MCMAHON (2005).

However, in an interview conducted with producers to understand the plurality of knowledge and religious syncretism among those using biodynamic farming, it was observed that some producers do not apply and do not fully understand the meaning of the esoteric principles proposed by biodynamic farming systems and that resistance to this dimension of practice occurs consciously (FOYER, 2018).

Some studies on “landscape” were observed; landscape is defined as the result of the combination of physical, biological and human elements in a given territory, forming a closely related organic unit, and is often used as a marker of sustainability.

Since the 1990s, Van Mansvelt (1998) compared the impact of different farming systems on landscape diversity. The greatest landscape diversity was seen in sustainable farms. In addition, all forms of coherence were higher in those farms, showing good potential for positive contributions to sustainable management of agro-landscapes.

According to Steiner (2009), in a more recent study based on the mapping and registration of cultivated areas and identification of ecological compensation in landscapes, slightly visible differences were observed between farming systems. Although the agricultural landscape has become increasingly depleted over the years, sustainable farms may have greater richness in areas of ecological compensation as well as greater plant diversity, such as hedgerows and fruit trees.

Another determining factor for sustainability is the process of reducing the substantial amount of greenhouse gases released by conventional agriculture. A study by Skinner (2019) compared the impact of nitrous oxide (N₂O) and methane (CH₄) emissions from different farming systems (biodynamic, bioorganic, mineral fertilization and mixed agriculture), and the results obtained from evaluations of gas fluxes in manual chambers showed that sustainable agriculture-based systems can contribute to the mitigation of greenhouse gas emissions in the agricultural sector.

The studies reveal that many of the producers adopt alternative agriculture primarily for ideological, spiritual and ethical reasons. They see themselves as part of the environment in which they live, respecting human beings and the environment; however, they still seek profitability and good agricultural production.

In general, the farms that adopt biodynamic farming systems tend to have greater sustainability (Figure 3). More than 60% of the studies evaluated showed positive results

regarding economic performance and sustainable development. Most of the studies showed that biodynamic agriculture systems generate the highest energy efficiency and lowest environmental costs. In addition, biodynamic systems exhibit resilience under unfavorable conditions and are interesting alternative farming systems, especially for viticulture, which was the focus of a large number of the studies analyzed (SMITH, 2015; VILLANUEVA-REY, 2014; GUZZON, 2016).

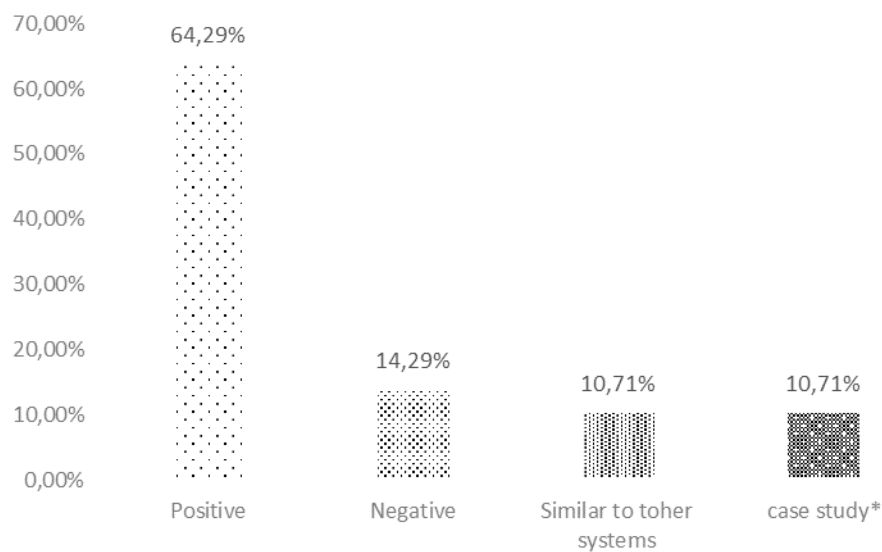


Figure 3: Economic performance and sustainable development capacity of biodynamic farming systems. **Source:** Prepared by the author. * Articles addressed the topic through a conceptual approach

Conclusion

In general, biodynamic farming systems can be considered an alternative production technology option, which, once improved and adapted to the individuality of each crop, have the potential to promote soil quality, productivity, economic performance and sustainability.

The bibliographic survey demonstrates that further field studies evaluating the conditions of agroecological transition, taking into account time, location, and management, are needed to better determine the characteristics of biodynamic agriculture.

In addition, biodynamic agriculture is intertwined with agronomic, environmental, ideological and political issues, and each of these areas needs to be a focus of attention in the pursuit of sustainable development.

Acknowledgements

We would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), the Federal University of Lavras (UFLA) and Paulista State University (UNESP) for all the financial support.

References

ABD. Brazilian Biodynamic Association. <https://biodinamica.org.br/>. Accessed on december 17, 2020.

Aher, S. B., B. L. Lakaria, A. B. Singh, S. Kaleshananda, S. Ramana, K. Ramesh, J. K. Thakur, P. S. Rajput and D. S. Yashona (2019). Effect of organic sources of nutrients on performance of soybean (*Glycine max*). Indian Journal of Agricultural Sciences 89(11): 35-39.

Aher, S. B., B. L. Lakaria, A. B. Singh, S. Kaleshananda and D. S. Yashona (2018). Nutritional quality of soybean and wheat under organic, biodynamic and conventional agriculture in semi-arid tropical conditions of Central India. Indian Journal of Agricultural Biochemistry 31(2): 128-136.

Aina, R., E. Berra, G. Marino, S. Sgorbati and S. Citterio (2008). "Impact of different agricultural practices on soil genotoxicity." Fresenius Environmental Bulletin 17(8B): 1190-1194.

Altieri, M. A., Nicholls, C. I., Henao, A., and Lana, M. A. (2015). Agroecology and the design of climate change-resilient farming systems. Agronomy for sustainable development, 35(3), 869-890.

Altieri, M. A., Nicholls, C.I., and Montalba, R. (2017). Technological approaches to sustainable agriculture at a crossroads: an agroecological perspective. Sustainability, 9 (3), 349.

Andreu, V., A. Levert, A. Amiot, A. Cousin, N. Aveline and C. Bertrand (2018). "Chemical composition and antifungal activity of plant extracts traditionally used in organic and biodynamic farming." Environmental Science and Pollution Research 25(30): 29971-29982.

Aparna, K., M. A. Pasha, D. L. N. Rao and P. U. Krishnaraj (2014). Organic amendments as ecosystem engineers: Microbial, biochemical and genomic evidence of soil health improvement in a tropical arid zone field site. Ecological Engineering 71: 268-277.

Arora, T., Y. Eklind, B. Ramert and S. Alstrom (2005). "Microbial analysis and test of plant pathogen antagonism of municipal and farm composts." Biological Agriculture & Horticulture 22(4): 349-367.

Baars, T., J. Wohlers, C. Rohrer, S. Lorkowski and G. Jahreis (2019). "Patterns of Biodynamic Milk Fatty Acid Composition Explained by A Climate-Geographical Approach."

Animals 9(3): 16.

Badmos, S., M. T. Fu, D. Granato and N. Kuhnert (2020). "Classification of Brazilian roasted coffees from different geographical origins and farming practices based on chlorogenic acid profiles." *Food Research International* 134:12.

Basedow, T. (1998). "The species composition and frequency of spiders (Araneae) in fields of winter wheat grown under different conditions in Germany." *Journal of Applied Entomology* 122(9-10): 585-590.

Baskar, P. and P. M. Shanmugham (2016). "Performance of chillies-sunflower cropping system under organic nutrient management." *International Journal of Agricultural and Statistical Sciences* 12:193-196.

Bavec, M., M. Narodoslawsky, F. Bavec and M. Turinek (2012). "Ecological impact of wheat and spelt production under industrial and alternative farming systems." *Renewable Agriculture and Food Systems* 27(3): 242-250.

Bavec, M., M. Turinek, S. Grobelnik Mlakar, N. Mikola and F. Bavec (2012). Some internal quality properties of white cabbage from different farming systems. *Acta Horticulturae, International Society for Horticultural Science*. 933: 577-584.

Bavec, M., M. Turinek, S. Grobelnik-Mlakar, A. Slatnar and F. Bavec (2010). "Influence of Industrial and Alternative Farming Systems on Contents of Sugars, Organic Acids, Total Phenolic Content, and the Antioxidant Activity of Red Beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* Rote Kugel)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(22): 11825-11831.

Berner, A., I. Hildermann, A. Fliessbach, L. Pfiffner, U. Niggli and P. Mader (2008). "Crop yield and soil fertility response to reduced tillage under organic management." *Soil & Tillage Research* 101(1-2): 89-96.

Birkhofer, K., T. M. Bezemer, J. Bloem, M. Bonkowski, S. Christensen, D. Dubois, F. Ekelund, A. Fliessbach, L. Gunst, K. Hedlund, P. Mader, J. Mikola, C. Robin, H. Setälä, F. Tatin-Froux, W. H. Van der Putten and S. Scheu (2008). "Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity." *Soil Biology & Biochemistry* 40(9): 2297-2308.

Bougnom, B. P., B. Greber, I. H. Franke-Whittle, C. Casera and H. Insam (2012). "Soil microbial dynamics in organic (biodynamic) and integrated apple orchards." *Organic Agriculture* 2(1): 1-11.

Burkitt, L. L., D. R. Small, J. W. McDonald, W. J. Wales and M. L. Jenkin (2007). "Comparing irrigated biodynamic and conventionally managed dairy farms. 1. Soil and pasture properties." *Australian Journal of Experimental Agriculture* 47(5): 479-488.

Campanhola, C., Valarini, P. J. Organic agriculture and its potential for small farmers. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, 18, 69-101, 2001.

Carpenter-Boggs, L., A. C. Kennedy and J. P. Reganold (2000). "Organic and biodynamic management: Effects on soil biology." *Soil Science Society of America Journal* 64(5): 1651-

1659.

Carpenter-Boggs, L., J. P. Reganold and A. C. Kennedy (2000). "Biodynamic preparations: Short-term effects on crops, soils, and weed populations." *American Journal of Alternative Agriculture* 15(3): 110-118.

Carpenter-Boggs, L., J. P. Reganold and A. C. Kennedy (2000). "Effects of biodynamic preparations on compost development." *Biological Agriculture & Horticulture* 17(4): 313-328.

Castellini, A., Mauracher, C., and Troiano, S. (2017). An overview of the biodynamic wine sector. *International Journal of Wine Research*, 9, 1-11.

Cavallet, L. E., M. Di Foggia and C. Rusin (2015). Chemical characteristics of the soil in a vineyard under organic and biodynamic management. *Scientia Agraria* 16(4): 31-48.

Condron, L. M., K. C. Cameron, H. J. Di, T. J. Clough, E. A. Forbes, R. G. McLaren and R. G. Silva (2000). A comparison of soil and environmental quality under organic and conventional farming systems in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 43(4): 443-466.

Cookson, W. R., P. Marschner, I. M. Clark, N. Milton, M. N. Smirk, D. V. Murphy, M. Osman, E. A. Stockdale and P. R. Hirsch (2006). "The influence of season, agricultural management, and soil properties on gross nitrogen transformations and bacterial community structure." *Australian Journal of Soil Research* 44(4): 453-465.

D'Evoli, L., A. Tarozzi, P. Hrelia, M. Lucarini, M. Cocchiola, P. Gabrielli, F. Franco, F. Morroni, G. Cantelli-Forti and G. Lombardi-Boccia (2010). "Influence of Cultivation System on Bioactive Molecules Synthesis in Strawberries: Spin-off on Antioxidant and Antiproliferative Activity." *Journal of Food Science* 75(1): C94-C99.

Di Giacinto, S., M. Friedel, C. Poll, J. Doring, R. Kunz and R. Kauer (2020). "Vineyard management system affects soil microbiological properties." *Oeno One* 54(1): 131-143.

Di Silvestro, R., A. Di Loreto, S. Bosi, V. Bregola, I. Marotti, S. Benedettelli, A. Segura-Carretero and G. Dinelli (2017). "Environment and genotype effects on antioxidant properties of organically grown wheat varieties: a 3-year study." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97(2): 641-649.

Doring, J., M. Frisch, S. Tittmann, M. Stoll and R. Kauer (2015). "Growth, Yield and Fruit Quality of Grapevines under Organic and Biodynamic Management." *Plos One* 10(10): 28.

Droogers, P. and J. Bouma (1996). "Biodynamic vs conventional farming effects on soil structure expressed by simulated potential productivity." *Soil Science Society of America Journal* 60(5): 1552-1558.

Faust, S., S. Heinze, C. Ngosong, A. Sradnick, M. Oltmanns, J. Raupp, D. Geisseler and R. G. Joergensen (2017). "Effect of biodynamic soil amendments on microbial communities in comparison with inorganic fertilization." *Applied Soil Ecology* 114: 82-89.

FAO, Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. (2018) *The Future of Food and Agriculture: Trends and Challenges*. Roma, Itália

Ferrazzi, G., S. Bormolini, G. Agnelli and V. Ventura (2016). The sustainability of biodynamic horticultural production: The case of Po valley. *Acta Horticulturae*. N. Toth, B. Benko and I. Zutic, International Society for Horticultural Science. 1142: 171-178.

Foissner, W. (1992). "Comparative-studies on the soil life in ecofarmed and conventionally farmed fields and grasslands of Austria." *Agriculture Ecosystems & Environment* 40(1-4): 207-218.

Forster, D., C. Andres, R. Verma, C. Zundel, M. M. Messmer and P. Mader (2013). "Yield and Economic Performance of Organic and Conventional Cotton-Based Farming Systems - Results from a Field Trial in India. *Plos One* 8(12): 15.

Foyer, J. (2018). Knowledge syncretism in biodynamic wine growing: incorporation in experience and sensitivity and initiation process." *Revue D Anthropologie Des Connaissances* 12(2):289-321.

Fritz, J., M. Athmann, G. Meissner, R. Kauer, U. Geier, R. Bornhutter and H. R. Schultz (2020). "Quality assessment of grape juice from integrated, organic and biodynamic viticulture using image forming methods." *Oeno One* 54(2): 373-391.

Fritz, J., R. Jannoura, F. Lauer, J. Schenk, P. Masson and R. G. Joergensen (2020). "Functional microbial diversity responses to biodynamic management in Burgundian vineyard soils." *Biological Agriculture & Horticulture* 36(3):172-186.

Gadermaier, F., A. Berner, A. Fliessbach, J. K. Friedel and P. Mader (2012). "Impact of reduced tillage on soil organic carbon and nutrient budgets under organic farming." *Renewable Agriculture and Food Systems* 27(1): 68-80.

Garcia-Yzaguirre, A., V. Dominguis, R. Carreres and M. Juan (2011). "Agronomic comparison between organic rice and biodynamic rice." *Spanish Journal of Agricultural Research* 9(1): 280-283.

Gharwalova, L., D. Hutar, J. Masak and I. Kolouchova (2018). "Antioxidant Activity and Phenolic Content of Organic and Conventional Vine Cane Extracts." *Czech Journal of Food Sciences* 36(4): 289-295.

Giannattasio, M., E. Vendramin, F. Fornasier, S. Alberghini, M. Zanardo, F. Stellin, G. Concheri, P. Stevanato, A. Ertani, S. Nardi, V. Rizzi, P. Piffanelli, R. Spaccini, P. Mazzei, A. Piccolo and A. Squartini (2013). Microbiological Features and Bioactivity of a Fermented Manure Product (Preparation 500) Used in Biodynamic Agriculture. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 23(5): 644-651.

Gliessman, S. R. *Agroecology: ecological processes in sustainable agriculture*. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2005.

Granato, D., M. D. Carrapeiro, V. Fogliano and S. M. van Ruth (2016). "Effects of geographical origin, varietal and farming system on the chemical composition and functional

properties of purple grape juices: A review." *Trends in Food Science & Technology* 52: 31-48.

Granato, D., A. Koot, E. Schnitzler and S. M. van Ruth (2015). "Authentication of geographical origin and crop system of grape juices by phenolic compounds and antioxidant activity using chemometrics." *Journal of Food Science* 80(3): C584-C593.

Granato, D., A. Koot and S. M. van Ruth (2015). "Geographical provenancing of purple grape juices from different farming systems by proton transfer reaction mass spectrometry using supervised statistical techniques." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(13): 2668-2677.

Granstedt, A. (1992). Case studies on the flow and supply of nitrogen in alternative farming in Sweden. I Skilleby-farm 1981-1987. *Biological Agriculture and Horticulture* 9(1): 15-63.

Grumbach, S., & Hamant, O. (2020). How can humans coexist with an Earth? The case of suboptimal systems. *Anthropocene*, 100245.

Gunst, L., W. Richner, P. Mader and J. Mayer (2013). "DOC trial: nutrient supply in winter wheat - where is the deficit?" *Agrarforschung Schweiz* 4(2): 74-81.

Guzzon, R., S. Gugole, R. Zanzotti, M. Malacarne, R. Larcher, C. von Wallbrunn and E. Mescalchin (2016). "Evaluation of the oenological suitability of grapes grown using biodynamic agriculture: the case of a bad vintage." *Journal of Applied Microbiology* 120(2): 355-365.

Hartmann, M., A. Fliessbach, H. R. Oberholzer and F. Widmer (2006). "Ranking the magnitude of crop and farming system effects on soil microbial biomass and genetic structure of bacterial communities." *Fems Microbiology Ecology* 57(3): 378-388.

Heger, T. J., F. Straub and E. A. D. Mitchell (2012). "Impact of farming practices on soil diatoms and testate amoebae: A pilot study in the DOK-trial at Therwil, Switzerland." *European Journal of Soil Biology* 49: 31-36.

Heimler, D., L. Isolani, P. Vignolini and A. Romani (2009). "Polyphenol content and antiradical activity of *Cichorium intybus* L. from biodynamic and conventional farming." *Food Chemistry* 114(3): 765-770.

Heimler, D., P. Vignolini, P. Arfaioli, L. Isolani and A. Romani (2012). "Conventional, organic and biodynamic farming: differences in polyphenol content and antioxidant activity of *Batavia lettuce*." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92(3): 551-556.

Heinze, S., J. Raupp and R. G. Joergensen (2010). "Effects of fertilizer and spatial heterogeneity in soil pH on microbial biomass indices in a long-term field trial of organic agriculture." *Plant and Soil* 328(1-2): 203-215.

Hendgen, M., J. Döring, V. Stöhrer, F. Schulze, R. Lehnart and R. Kauer (2020). "Spatial differentiation of physical and chemical soil parameters under integrated, organic, and biodynamic viticulture." *Plants* 9(10): 1-15.

Hendgen, M., B. Hoppe, J. Döring, M. Friedel, R. Kauer, M. Frisch, A. Dahl and H. Kellner (2018). "Effects of different management regimes on microbial biodiversity in vineyard soils." *Scientific Reports* 8(1).

Ingram, M. (2007). "Biology and beyond: The science of "back to nature" farming in the United States." *Annals of the Association of American Geographers* 97(2): 298-312.

Ingrisch, S., E. Gluck and U. Wasner (1988). "The effect of biodynamic and conventional agriculture on the epigeic fauna of fields." *Verhandlungen - Gesellschaft für Ökologie* 18: 835-841.

Jaffuel, G., P. Mader, R. Blanco-Perez, X. Chiriboga, A. Fliessbach, T. C. J. Turlings and R. Campos-Herrera (2016). "Prevalence and activity of entomopathogenic nematodes and their antagonists in soils that are subject to different agricultural practices." *Agriculture Ecosystems & Environment* 230: 329-340.

Jakopic, J., A. Slatnar, M. Mikulic-Petkovsek, R. Veberic, F. Stampar, F. Bavec and M. Bavec (2013). "Effect of different production systems on chemical profiles of dwarf French bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Top Crop) pods." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(10): 2392-2399.

Jariene, E., N. Vaitkevičienė, H. Danilčenko, M. Gajewski, G. Chupakhina, P. Fedurayev and R. Ingold (2015). Influence of biodynamic preparations on the quality indices and antioxidant compounds content in the tubers of coloured potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 43(2): 392-397.

Jariene, E., N. Vaitkeviciene, H. Danilcenko, A. Tajner-Czopek, E. Rytel, A. Kucharska, A. Sokol-Letowska, M. Gertchen and M. Jeznach (2017). "Effect of biodynamic preparations on the phenolic antioxidants in potatoes with coloured-flesh." *Biological Agriculture & Horticulture* 33(3): 172-182.

Joergensen, R. G., P. Mäder and A. Fließbach (2010). "Long-term effects of organic farming on fungal and bacterial residues in relation to microbial energy metabolism." *Biology and Fertility of Soils* 46(3): 303-307.

Kecskeméti, E., B. Berkelmann-Löhnertz and A. Reineke (2016). "Are epiphytic microbial communities in the carposphere of ripening grape clusters (*Vitis vinifera* L.) different between conventional, organic, and biodynamic grapes?" *PLoS ONE* 11(8).

Kihlberg, I., L. Johansson, A. Kohler and E. Risvik (2004). "Sensory qualities of whole wheat pan bread – influence of farming system, milling and baking technique." *Journal of Cereal Science* 39(1): 67-84.

Kjellenberg, L. and A. Granstedt (2015). "Influences of Biodynamic and Conventional Farming Systems on Quality of Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Crops: Results from Multivariate Analyses of Two Long-Term Field Trials in Sweden." *Foods* 4(3): 440-462.

Koch, G. (1991). "Fungal pathogens on winter-wheat in comparison of 2 conventional farms and one biodynamic farm in hesse (frg) 1986/87." *Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 98(2): 125-136.

Koepf, H. H., Pettersson, B. D., Schumann, W. *Biodynamic agriculture*. São Paulo: Nobel, 1986.

Krauss, M., A. Berner, F. Perrochet, R. Frei, U. Niggli and P. Mäder (2020). "Enhanced soil quality with reduced tillage and solid manures in organic farming – a synthesis of 15 years." *Scientific Reports* 10.

Larsson, M. (2012). "Environmental Entrepreneurship in Organic Agriculture in Jarna, Sweden." *Journal of Sustainable Agriculture* 36(1-2): 153-179.

Leifeld, J., R. Reiser and H. R. Oberholzer (2009). "Consequences of Conventional versus Organic farming on Soil Carbon: Results from a 27-Year Field Experiment." *Agronomy Journal* 101(5): 1204-1218.

Longa, C. M. O., L. Nicola, L. Antonielli, E. Mescalchin, R. Zanzotti, E. Turco and I. Pertot (2017). Soil microbiota respond to green manure in organic vineyards. *Journal of Applied Microbiology* 123(6): 1547-1560.

Letourneau, D. K., & Bothwell, S. G. (2008). Comparison of organic and conventional farms: challenging ecologists to make biodiversity functional. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(8), 430-438.

Lyttonhitchins, J. A., A. J. Koppi and A. B. McBratney (1994). The soil condition of adjacent biodynamic and conventionally managed dairy pastures in Victoria, Australia. *Soil Use and Management* 10(2): 79-87.

Maciel, L. F., C. D. Oliveira, E. D. Bispo and M. D. S. Miranda (2011). "Antioxidant activity, total phenolic compounds and flavonoids of mangoes coming from biodynamic, organic and conventional cultivations in three maturation stages." *British Food Journal* 113(8-9): 1103-1113.

MAPA (Ministry of Agriculture and Supply) <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/plano-abc> <access: 06/01/2020>

Martini, A., C. C. de Almeida, M. M. Guilhermino and C. Lotti (2015). Evaluation of dairy goat welfare in different production systems in Tuscany. *Organic Agriculture* (3): 225-234.

Masi, E., C. Taiti, P. Vignolini, A. W. Petrucci, E. Giordani, D. Heimler, A. Romani and S. Mancuso (2017). Polyphenols and aromatic volatile compounds in biodynamic and conventional 'Golden Delicious' apples (*Malus domestica* Bork.). *European Food Research and Technology* 243(9): 1519-1531.

Matteo, G., E. Vendramin, F. Fornasier, S. Alberghini, M. Zanardo, F. Stellin, G. Concheri, P. Stevanato, A. Ertani, S. Nardi, V. Rizzi, P. Piffanelli, R. Spaccini, P. Mazzei, A. Piccolo and A. Squartini (2013). Microbiological features and bioactivity of a fermented manure product (Preparation 500) used in biodynamic agriculture. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 23(5): 644-665.

Mayer, J., L. Gunst, P. Mäder, M. F. Samson, M. Carcea, V. Narducci, I. K. Thomsen and D. Dubois (2015). Productivity, quality and sustainability of winter wheat under long-term

conventional and organic management in Switzerland. *European Journal of Agronomy* 65: 27-39.

McCarthy, B. and A. Schurmann (2018). Risky business: growers' perceptions of organic and biodynamic farming in the tropics. *Rural Society* 27(3): 177-191.

McMahon, N. (2005). Biodynamic farmers in Ireland. Transforming society through purity, solitude and bearing witness? *Sociologia Ruralis* 45(1-2): 98-+.

Meissner, G., M. Athmann, J. Fritz, R. Kauer, M. Stoll and H. R. Schultz (2019). "Conversion to organic and biodynamic viticultural practices: impact on soil, grapevine development and grape quality. *Oeno One* 53(4): 639-659.

Morau, A., H. P. Piepho and J. Fritz (2020). Growth responses of garden cress (*Lepidium sativum* L.) to biodynamic cow manure preparation in a bioassay. *Biological Agriculture & Horticulture* 36(1): 16-34.

Morrison-Whittle, P., S. A. Lee and M. R. Goddard (2017). Fungal communities are differentially affected by conventional and biodynamic agricultural management approaches in vineyard ecosystems. *Agriculture Ecosystems & Environment* 246: 306-313.

Murata, T. and K. M. Goh (1997). Effects of cropping systems on soil organic matter in a pair of conventional and biodynamic mixed cropping farms in Canterbury, New Zealand. *Biology and Fertility of Soils* 25(4): 372-381.

Naglova, Z. and E. Vlasicova (2016). Economic Performance of Conventional, Organic, and Biodynamic Farms. *Journal of Agricultural Science and Technology* 18(4): 881-894.

Neuhoff, D., D. G. Schulz and U. Kopke (1998). Yield and quality of potato tubers: Effects of different intensity and kind of manuring (biodynamic or organic). Tholey-Theley, Int Federat Organic Agricultural Movement.

Ngosong, C., M. Jarosch, J. Raupp, E. Neumann and L. Ruess (2010). "The impact of farming practice on soil microorganisms and arbuscular mycorrhizal fungi: Crop type versus long-term mineral and organic fertilization." *Applied Soil Ecology* 46(1): 134-142.

Nguyen, M. L., R. J. Haynes and K. M. Goh (1995). "Nutrient budgets and status in three pairs of conventional and alternative mixed cropping farms in Canterbury, New Zealand." *Agriculture, Ecosystems and Environment* 52(2-3): 149-162.

Nolte, C. and W. Werner (1994). "Investigations on the nutrient cycle and its components of a biodynamically-managed farm." *Biological Agriculture & Horticulture* 10(4): 235-254.

Oberson, A., J. M. Besson, N. Maire and H. Sticher (1996). "Microbiological processes in soil organic phosphorus transformations in conventional and biological cropping systems." *Biology and Fertility of Soils* 21(3): 138-148.

Oberson, A., J. C. Fardeau, J. M. Besson and H. Sticher (1993). "Soil phosphorus dynamics in cropping systems managed according to conventional and biological agricultural methods." *Biology and Fertility of Soils* 16(2):111-117.

Ong, T. W. Y., & Liao, W. (2020). Agroecological transitions: a mathematical perspective on a transdisciplinary problem. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 91.

Parpinello, G. P., A. Ricci, A. D. Rombola, G. Nigro and A. Versari (2019). "Comparison of Sangiovese wines obtained from stabilized organic and biodynamic vineyard management systems." *Food Chemistry* 283: 499-507.

Patrignani, F., C. Montanari, D. I. Serrazanetti, G. Braschi, P. Vernocchi, G. Tabanelli, G. P. Parpinello, A. Versari, F. Gardini and R. Lanciotti (2017). "Characterisation of yeast microbiota, chemical and sensory properties of organic and biodynamic Sangiovese red wines." *Annals of Microbiology* 67(1): 99-109.

Pechrová, M. and E. Vlašicová (2013). "Technical efficiency of organic and biodynamic farms in the Czech Republic." *Agris On-line Papers in Economics and Informatics* 5(4): 143-152.

Penfold, C. M., M. S. Miyan, T. G. Reeves and I. T. Grierson (1995). "Biological farming for sustainable agricultural production." *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35(7): 849-856.

Pfiffner, L. and P. Mader (1997). "Effects of biodynamic, organic and conventional production systems on earthworm populations." *Biological Agriculture & Horticulture* 15(1-4): 3-10.

Pfiffner, L. and U. Niggli (1996). "Effects of bio-dynamic, organic and conventional farming on ground beetles (Col Carabidae) and other epigaeic arthropods in winter wheat." *Biological Agriculture & Horticulture* 12(4): 353-364.

Pfitscher, E. D., P. C. Pfitscher and S. V. Soares (2010). "Biodynamic agriculture: Self-maintenance on rural properties." *Revista em Agronegocio e Meio Ambiente* 3(3): 179-195.

Picone, G., A. Trimigno, P. Tessarin, S. Donnini, A. D. Rombolà and F. Capozzi (2016). "1H NMR foodomics reveals that the biodynamic and the organic cultivation managements produce different grape berries (*Vitis vinifera* L. cv. Sangiovese)." *Food Chemistry* 213: 187-195.

Posner, J. L., G. G. Frank, K. V. Nordlund and R. T. Schuler (2009). "A constant goal, changing tactics: The Krusenbaum dairy farm (1996-2005)." *Renewable Agriculture and Food Systems* 24(1): 8-18.

Pratibha, G., G. R. Korwar, B. Venkateswarlu, S. Desai, G. R. Chary, M. S. Rao, K. Srinivas, K. S. Rao, C. S. Rao, L. D. Amalraj, D. K. Choudhary, M. K. Raju and I. Srinivas (2013). "Utilization of composted bixa shell with diferente bioinoculants as soil amendment for ashwagandha and bixa growth." *Ecological Engineering* 61: 235-244.

Radha, T. K. and D. L. N. Rao (2014). "Plant Growth Promoting Bacteria from Cow Dung Based Biodynamic Preparations." *Indian Journal of Microbiology* 54(4): 413-418.

- Ram, R. A. and R. K. Pathak (2007). Integration of organic farming practices for sustainable production of Guava: A case study. *Acta Horticulturae*, International Society for Horticultural Science. 735: 357-363.
- Ram, R. A., A. Singha and S. R. Bhriguvanshi (2014). "Response of on farm produced organic inputs on soil, plant nutrient status, yield and quality of guava (*Psidium guajava*) cv Allahabad Safeda." *Indian Journal of Agricultural Sciences* 84(8): 962-967.
- Reeve, J. R., L. Carpenter-Boggs, J. P. Reganold, A. L. York and W. F. Brinton (2010). "Influence of biodynamic preparations on compost development and resultant compost extracts on wheat seedling growth." *Bioresource Technology* 101(14): 5658-5666.
- Reeve, J. R., L. Carpenter-Boggs, J. P. Reganold, A. L. York, G. McGourty and L. P. McCloskey (2005). "Soil and winegrape quality in biodynamically and organically managed vineyards." *American Journal of Enology and Viticulture* 56(4): 367-376.
- Reeve, J. R., L. Carpenter-Boggs and H. Sehmsdorf (2011). "Sustainable agriculture: A case study of a small Lopez Island farm." *Agricultural Systems* 104(7): 572-579.
- Reganold, J. P. (1995). "Soil quality and profitability of biodynamic and conventional farming systems: A review." *American Journal of Alternative Agriculture* 10(1): 36-45.
- Reganold, J. P., A. S. Palmer, J. C. Lockhart and A. N. Macgregor (1993). "Soil quality and financial performance of biodynamic and conventional farms in New Zealand." *Science* 260(5106): 344-349.
- Robusti, E. A., V. A. Mazeto, M. U. Ventura, D. Soares Júnior and A. D. O. Menezes (2019). "Soybean crop profitability: Biodynamic vs conventional farming in a 7-yr case study in Brazil." *Renewable Agriculture and Food Systems*: 1-6.
- Rotchés-Ribalta, R., L. Armengot, P. Mäder, J. Mayer and F. X. Sans (2017). "Long-Term Management Affects the Community Composition of Arable Soil Seedbanks." *Weed Science* 65(1): 73-82.
- Ryan, M. (1999). "Is an enhanced soil biological community, relative to conventional neighbours, a consistent feature of alternative (organic and biodynamic) agricultural systems?" *Biological Agriculture & Horticulture* 17(2):131-144.
- Ryan, M. and J. Ash (1999). "Effects of phosphorus and nitrogen on growth of pasture plants and VAM fungi in SE Australian soils with contrasting fertiliser histories (conventional and biodynamic)." *Agriculture Ecosystems & Environment* 73(1): 51-62.
- Sans, F. X., A. Berner, L. Armengot and P. Mader (2011). "Tillage effects on weed communities in an organic winter wheat-sunflower-spelt cropping sequence." *Weed Research* 51(4): 413-421.
- Schuphan, W. (1974). "Nutritional value of crops as influenced by organic and inorganic fertilizer treatments - Results of 12 years' experiments with vegetables (1960-1972)." *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition* 23(4): 333-358.

Shepherd, M. A., R. Harrison and J. Webb (2002). "Managing soil organic matter - implications for soil structure on organic farms." *Soil Use and Management* 18: 284-292.

Skinner, C., A. Gattinger, M. Krauss, H. M. Krause, J. Mayer, M. G. A. van der Heijden and P. Mäder (2019). "The impact of long-term organic farming on soil-derived greenhouse gas emissions." *Scientific Reports* 9(1).

Smith, L. G., A. G. Williams and B. D. Pearce (2015). "The energy efficiency of organic agriculture: A review." *Renewable Agriculture and Food Systems* 30(3): 280-301.

Spaccini, R., P. Mazzei, A. Squartini, M. Giannattasio and A. Piccolo (2012). "Molecular properties of a fermented manure preparation used as field spray in biodynamic agriculture." *Environmental Science and Pollution Research* 19(9): 4214-4225.

Steiner, R. S. and C. Pohl (2009). "Is Organic Farming Reflected in the Landscape? A Comparison of the Effects of Different Farming Techniques on Rural Landscapes." *Gaia-Ecological Perspectives for Science and Society* 18(1): 41-48.

Tarozzi, A., M. Cocchiola, L. D'Evoli, F. Franco, P. Hrelia, P. Gabrielli, M. Lucarini, A. Aguzzi and G. Lombardi-Boccia (2010). Fruit attributes, phenolic compounds, antioxidant and antiproliferative activity of strawberries (*Fragaria ananassa*, 'Favette') grown by biodynamic and conventional agriculture methods. *Acta Horticulturae*, International Society for Horticultural Science. 873: 289-294.

Tassoni, A., N. Tango and M. Ferri (2013). "Comparison of biogenic amine and polyphenol profiles of grape berries and wines obtained following conventional, organic and biodynamic agricultural and oenological practices." *Food Chemistry* 139(1-4): 405-413.

Tittarelli, F. (2020). Organic Greenhouse Production: Towards an Agroecological Approach in the Framework of the New European Regulation—A Review. *Agronomy*, 10(1), 72.

Troiano, S., V. Novelli, P. Geatti, F. Marangon and L. Ceccon (2019). "Assessment of the sustainability of wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*) production: Application of a multi-criteria method to different farming systems in the province of Udine." *Ecological Indicators* 97: 301-310.

Tung, L. D. and P. G. Fernandez (2007). "Soybeans under organic, biodynamic and chemical production at the Mekong Delta, Vietnam." *Philippine Journal of Crop Science* 32(2): 49-61.

Turinek, M., F. Bavec, M. Repič, M. Bavec, C. G. Athanassiou, M. Turinek, E. Leitner, P. Trematerra and S. Trdan (2016). "Mortality, progeny production and preference of *Sitophilus zeamais* adults to wheat from integrated and alternative production systems." *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science* 66(5): 443-451.

Turinek, M., M. Bavec, M. Repic, M. Turinek, A. U. Krajnc, C. Mollers, A. Tres and F. Bavec (2017). "Effects of intensive and alternative production systems on the technological and quality parameters of rapeseed seed (*Brassica napus* L. 'Siska')." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97(8): 2647-2656.

- Turinek, M., S. Grobelnik-Mlakar, M. Bavec and F. Bavec (2009). "Biodynamic agriculture research progress and priorities." *Renewable Agriculture and Food Systems* 24(2): 146-154.
- Vaitkevičienė, N., E. Jariene, H. Danilcenko and B. Sawicka (2016). "Effect of biodynamic preparations on the content of some mineral elements and starch in tubers of three coloured potato cultivars." *Journal of Elementology* 21(3): 927-935.
- Vaitkevičiene, N., E. Jariene, R. Ingold and J. Peschke (2019). "Effect of biodynamic preparations on the soil biological and agrochemical properties and coloured potato tubers quality." *Open Agriculture* 4(1): 17-23.
- Valdez, R. E. and P. G. Fernandez (2008). "Productivity and seed quality of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars grown under synthetic, organic fertilizer and biodynamic farming practices." *Philippine Journal of Crop Science* 33(1):37-58.
- Van Mansvelt, J. D., D. J. Stobbelaar and K. Hendriks (1998). "Comparison of landscape features in organic and conventional farming systems." *Landscape and Urban Planning* 41(3-4): 209-227.
- Verma, S. K., B. S. Asati, S. K. Tamrakar, H. C. Nanda and C. R. Gupta (2011). "Effect of organic components on growth, yield and economic returns in potato." *Potato Journal* 38(1): 51-55.
- Villanueva-Rey, P., I. Vazquez-Rowe, M. O. T. Moreira and G. Feijoo (2014). "Comparative life cycle assessment in the wine sector: biodynamic vs. conventional viticulture activities in NW Spain." *Journal of Cleaner Production* 65:330-341.
- Vlašicová, E. and Z. Náglová (2015). "Differences in the financial management of conventional, organic, and biodynamic farms." *Scientia Agriculturae Bohemica* 46(3): 106-111.
- Wheeler, S. A. and A. Marning (2019). "Turning water into wine: Exploring water security perceptions and adaptation behaviour amongst conventional, organic and biodynamic grape growers." *Land Use Policy* 82:528-537.
- Zaller, J. G. (2007). "Seed germination of the weed *Rumex obtusifolius* after on-farm conventional, biodynamic and vermicomposting of cattle manure." *Annals of Applied Biology* 151(2): 245-249.
- Zaller, J. G. and U. Köpke (2004). "Effects of traditional and biodynamic farmyard manure amendment on yields, soil chemical, biochemical and biological properties in a long-term field experiment." *Biology and Fertility of Soils* 40(4): 222-229.
- Zörb, C., G. Langenkämper, T. Betsche, K. Neehaus and A. Barsch (2006). "Metabolite profiling of wheat grains (*Triticum aestivum* L.) from organic and conventional agriculture." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(21): 8301-8306.

CAPÍTULO 3

Different fertilizer sources influence the vegetative growth, essential oil content and yield of *Pelargonium graveolens* L.'Hér (geranium)

(Artigo estruturado e submetido na revista Industrial Crops and Products)

Abstract: The objective of this work was to evaluate different sources of fertilization, regarding the vegetative growth, content and yield of the essential oil of *Pelargonium graveolens*, represented by seven treatments: T1) soil + N-P-K; T2) soil without fertilization; T3) soil + biodynamic fertilization; T4) soil + organic fertilization; T5) soil + biodynamic fertilization + plant growth-promoting bacteria (PGPB); T6) soil + organic fertilization + PGPB; and T7) soil + compost. Plants subjected to treatments T1, T3 and T5 showed lower rates of agronomic development, as well as scarce essential oil contents and yields. The application of *Azospirillum brasilense* (PGPB) did not cause significant differences in the treatments. Plants in treatments T4 and T6 showed greater agronomic developments, contents and yields of essential oil. Therefore, it is suggested that the organic fertilization can be considered a promising production biotechnology for the cultivation of *P. graveolens*.

Keywords: Geranium; Biodynamics; *Azospirillum*; Organic compost; Medicinal plants.

1. Introduction

Pelargonium graveolens L. 'Hérit is popularly known as geranium or rose-scented geranium. Ethnobotanical studies considered the use of this ancient species, used by traditional medicine in the form of tea made by leaves and roots, chewing and in natura consumption, countless other forms of preparation and handling for various therapeutic purposes (Asgarpanah e Ramezanloo, 2015). Geranium is currently grown and marketed as an important ornamental and aromatic plant, used in perfumery, cosmetics, food and pharmaceutical industries (Szutt et al., 2019; El-Kareem et al., 2020).

The chemical compounds of the essential oil and extract of geranium leaves have a wide range of bioactivities, with reported benefits in the treatment of hyperglycemia; as astringent, diuretic, antidiabetic, antispasmodic and antioxidant (Masullo, 2015; Hamidpour et al., 2017). There are also records of high antimicrobial potential (Dorman e Deans, 2000; Boukhatem et

al., 2013; Mazzei et al., 2020; Gucwa, 2018; Moutaouafiq et al., 2019, Kujur et al., 2020, Dos Santos et al., 2020), as well as having a repellent effect to flies and larvicide (Benelli., 2017; Saraiva et al., 2020), antinociceptive (Heydari e Mirazi, 2016; Can et al., 2018), anticâncer (El-Garawani et al.,2019) e photo protector (Lohani et al., 2019).

The concentrations of secondary metabolites of economic interest in aromatic plants are generally very low, corresponding to less than 1% of the dry mass, with significant fluctuations, depending on several factors such as genetic characteristics of the species, edaphoclimatic conditions, cultivation system in which they are inserted and biotic and abiotic factors (Szutt et al., 2019; Riahi et al., 2020). In the specific case of commercial cultivation of *P. graveolens*, it is necessary to study such factors, in search of efficient strategic conditions for the management of the species, aiming the elaboration of a high-yield production system of secondary metabolites (Thakur et al., 2019).

According to ANVISA (2016), the ideal commercial production of medicinal plants is the one which is based on sustainable systems. This proposal is in accordance with the rules of the European Pharmacopoeia, which established limits for the quantities of toxic residues in plant products marketed and used as raw material for the production of herbal medicines (Ph. Eur., 2016). The deliberate use of agrochemicals to provide higher yields in cultivation for the production of bioactive molecules is controversial, due to their negative impact on human health and the environment (Riahi et al., 2020). Thus, it is necessary to improve the cultivation system in search of desirable commercial characteristics, always bearing in mind the socio-environmental responsibility.

Different forms of sustainable cultivation, called "regenerative crops" or "alternative crops", are known. Among them, it is worth mentioning organic agriculture and biodynamic agriculture (Ong e Liao, 2020). Such systems are included in the concept of agroecology and aim to maximize the recycling of energy and nutrients, establish the least possible dependence on external inputs, employ integrated management methods and alternative cultural treatments. Therefore, the use of agrochemicals is suppressed (Gliessman, 2005; Bengtsson et al., 2005; Santos et al., 2013; Letourneau e Botwell, 2008; Tittarelli, 2020). In addition, there is the vision of a democratic, participative agriculture and a perspective of social and economic inclusion, together with interactions between plants, animals, humans and the environment; seeking the maximum preservation of natural resources and the appeal to the survival of future generations (Altieri et al., 2015; FAO, 2018).

In the search for the development of sustainable agricultural technologies, the replacement of agrochemicals by plant growth promoting bacteria (PGPB) has been an option.

Studies have shown that the use of such microorganisms in the production of medicinal plants can contribute to the biosynthesis of secondary metabolites, as well as favoring the increase in nutrient absorption, growth and agronomic development of several plant species (Pereira et al., 2019). These bacteria, native to soils and plants, have natural mechanisms, direct and indirect, that promote the increase of agricultural production, without interfering in the environmental balance.

In this sense, in order to contribute to the sustainable methods of production of *Pelargonium graveolens*, the aim of this work was to evaluate the effects of different fertilizer sources and growth-promoting bacteria in plants on growth, vegetative growth, content and yield of essential oil of the species.

2. Material and Methods

Local and plant material

The experiment was carried out in an experimental field at the Plant Tissue Culture Laboratory of the Department of Agriculture at the Federal University of Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brazil, from March 26 to October 14, 2019.

Pelargonium graveolens plantlets were produced by cuttings, from parent plants belonging to the UFLA Medicinal Plant Garden, planted in 128-cell plastic trays, containing commercial substrate Plantmax®. After 40 days of growth, the plantlets were transplanted to the soil in the experimental field.

Experimental design

The experiment was installed in a randomized block design, containing seven treatments with three replications (Table 1).

Table 1

Treatments applied in the experiment.

Treatments	Factors
T1	SOIL + NPK (4-14-8)
T2	SOIL without fertilization
T3	SOIL + Biodynamic Fertilization
T4	SOIL + Organic Fertilization
T5	SOIL + Biodynamic Fertilization + PGPBs*
T6	SOIL + Organic Fertilization + PGPBs*
T7	SOIL + Compost

*Plant growth-promoting bacteria.

2.1 Treatments applied in the experiment

2.1.1 Positive e negative control

The positive control consisted of N-P-K (4-14-8) fertilizer 60g/m² (T1), while the negative control consisted of soil without fertilizers (T2).

2.1.2 Biodynamic fertilization

Biodynamic fertilization (T3 and T5) consisted of the application of biodynamic preparations acquired from the Brazilian Association of Biodynamic Agriculture. Preparations 500 (horn and manure), 501 (silica and manure) and barrel compost or fladen were used. The preparations 500 (0.05 g in 20 mL of water, per treatment, dynamized for 1 h) and fladen (0.05 g in 20 mL of water, per treatment, dynamized for 20 min) were incorporated into the soil. After adaptation in the field and the beginning of vegetative development of the plants, the preparation 501 was applied via leaves (0.06 g L⁻¹ dynamized for 1 h and sprayed upwards for 3 consecutive days). The amounts and forms of application were based on the average values suggested by the Brazilian Association of Biodynamic Agriculture.

2.1.3 Organic fertilization

Organic fertilization (T4 and T6) initially consisted of nutrition via soil with organic compost (10 L m⁻²). This mixture was formulated from cattle manure, coffee straw and cane vinasse; Yoorin® thermophosphate (400 g m⁻² - based on average values indicated by the manufacturer (Yoorin Fertilizantes) - 4000 kg ha⁻¹) and magnesium silicate (50 g m², average recommendation of 500 kg ha⁻¹) as a source of silicon. After adaptation in the field and beginning of the vegetative development of the plants, fertilization was performed via leaf every fifteen days with Quimifol Florada® and Supa Trace®, containing calcium and low solubility micronutrients such as, boron, molybdenum, zinc, manganese and copper (2 mL L⁻¹ of water according to the recommendation).

2.1.4 Compost

The treatment containing soil plus the addition of compost (T7) consisted of the application of organic compost incorporated into the soil (10 L m⁻²). The compost used was formulated from cattle manure, coffee straw and cane vinasse, presenting the characteristics mentioned in the Table 2.

Table 2

Characteristics of the compost formulated from cattle manure, coffee straw and cane vinasse, used in T4, T6 and T7.

Physico-chemical characteristics								
pH	Density	Elect. Cap. mSL m cm ⁻¹			Org. M. % (Total Carbon)		C/N Ratio	
7.8	0.45	3.42			24.67		20.55	
Macronutrients								
-----%-----								
P	K	Ca	Mg	Na	S	Total N		
2.7033	1.5733	5.9	0.66	0.03	0.36	1.2		
Micronutrientes								
-----mg L ⁻¹ -----								
Fe	Cu	Mn	Zinc	B	Cd	Mo	Co	Si
0.99	46.67	290	150	0.09	0.3	0.17	0.1	9.67

2.1.5 Inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB)

Another factor used concomitant with biodynamic and organic fertilizers was the inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) of the species *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg & Döbereiner, 1978 (*Rhodospirillaceae*) (T5 and T6). The incorporation of 50 mL per plant with a population of 10⁸ of *A. brasilense* was performed every 15 days in the corresponding treatments.

The nutrient broth used for the multiplication of the bacteria was prepared with 5 g L⁻¹ peptone, 3 g L⁻¹ meat extract and 5 g L⁻¹ NaCl; and divided into different proportions in 4 containers: Eppendorf (1mL), test tube (9 mL), Erlenmeyer (90 mL) and tempered glass bottle (900 mL). The containers containing the nutrient broth were autoclaved and kept at room temperature. The bacterium *A. brasilense* was supplied by the Agricultural Microbiology Culture Collection at UFLA, in which it is kept refrigerated in a Petri dish in a solid medium. This was transferred to the first container containing the nutrient broth (Eppendorf – 1 mL), remaining for 24 h on a shaking table until the contents were transferred to the next larger volume container, which was also kept for 24 h on a shaking table and so on, up to the 900 mL container. The final contents of the container were applied to the soil after 24 h of rest at room temperature.

2.2 Experiment installation

Initially, the soil analysis was carried out, in which it presented the characteristics shown in the Table 3. Then, the area was weeded and structured manually in beds of 1 m², containing 5 plants per bed. Each treatment consisted of 3 repetitions in 50x50 cm / plant spacing. Totaling 21 beds and 105 plants.

Table 3

Chemical analysis of the soil used in the experiment.

K	P	S	Zn	Fe	Mn
-----mg dm ⁻³ -----					
2.55	0.47	3.06	0.47	29.89	0.47
Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	P-Rem	O.M.	pH
-----cmolc dm ⁻³ -----			-----dag kg ⁻¹ -----		
0.27	0.10	0.04	14.97	0.73	5.4
H+Al	SB	CEC	m	V	Cu
-----cmolc dm ⁻³ -----			-----%-----		
1.54	0.38	1.92	9.52	19.61	1.41

B (%)					
0.01					

O.M.: soil organic matter; SB: sum of bases; m: aluminum saturation index; V: base saturation index; CEC: cation exchange capacity at pH 7.0; P-Rem: remaining phosphorus.

2.3 Agronomic analysis

After 160 days of planting, prior to the harvest process, the following agronomic analyzes were performed: plant height, crown diameter and root length, using a tape measure; and number of stems. Subsequently, the plants were collected and weighed to obtain the fresh biomass. Then, they were cut, packed in Kraft paper and kept in a forced air circulation oven at 34 °C, for five days. After that, they were weighed and, thus, the dry biomass was obtained.

2.4 Essential oil extraction

The extraction of essential oil (EO) was performed at the Laboratory of Natural Products - Department of Chemistry at UFLA. In the extraction process, the dry aerial part of the plants of the respective treatments were scraped, weighed, and crushed in a blender with deionized water. Then, the resulting mixture was transferred to a 5 L round-bottom flask, which was coupled to a Clevenger type apparatus, in which hydrodistillation process was carried out for 4 h. The EO obtained was separated from the water by decantation and dried with anhydrous Na₂SO₄. After filtration on a cotton plug, it was placed in a glass bottle and stored at temperature below 0°C.

2.5 Analysis by gas chromatography with mass spectrometry detector (GC-MS)

The chemical composition of the essential oil was determined through analysis in a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (CG-MS), model QP2010 (Shimadzu),

equipped with a fused silica capillary column (30 m long and 0.25 mm internal diameter), with RTX®-5MS stationary phase (0.25 µm film thickness), using helium as carrier gas with a flow rate of 1.0 mL per minute.

The mass spectra were obtained by electron impact at 70 eV, with a sweep from 29 to 400 (m/z), injected 1 µL of the oil solution prepared in the concentration of 10 mg L⁻¹, with a split ratio of 1:20. The initial temperature of the column was 60°C, with a program to increase 2°C per minute until reaching the temperature of 200°C, and 5°C per minute until reaching a maximum temperature of 250°C. As an external standard, a mixture of linear alkanes (C₉-C₁₇) was used. To verify the RI (retention index) the formula of Van den Dool and Kratz (1963) was used. The values of the calculated retention rates were compared to values found in the literature (Adams, 2017).

The relative percentage of each compound was calculated using the ratio between the area of each peak and the total area of all constituents in the sample. For the identification of the substance corresponding to each peak in the chromatogram, comparisons were made of the mass spectra obtained with those present in the NIST database (Mass Spectral Library).

The calculation of content and yield of essential oil extractions was expressed by the volume of essential oil per mass of plant material (Dry Biomass of the Pharmacogen - DBP), according to the equation: Oil content (%) = [Oil volume (mL) / DBP (g)] x 100. The yield was expressed by the equation: Yield (g plant⁻¹) = [Oil content (%) x DBAP (Dry biomass of the aerial part) (g)] / 100.

2.6 Statistical analysis

Previously, tests of data homoscedasticity and normality were performed by ASSISTAT software (Silva e Azevedo, 2009). Then, data were gathered for analysis of variance, by the F test, and comparison of means by the Scott-Knott test. The statistical program SISVAR was used for these analyses (Ferreira, 2011).

Standardized data of dry biomass, yield and volatile constituents of essential oil of *P. graveolens* as a function of fertilization management were submitted to multivariate analysis. Principal component analysis (PCA) was presented in a biplot plot (Scores and Loadings) using Statistica software, version 13.5 (StatSoft, Tulsa, OK). The values of dry biomass, oil yield and the levels of chemical compounds identified were transformed by PCA into orthogonal latent variables, which are linear combinations of all original variables.

3. Results and discussion

Agronomic characteristics

When analyzing the results obtained (table 4) it is verified that the plants submitted to organic fertilization (T4) and organic fertilization + PGPB (T6) presented the highest values of growth, number of stems, crown diameter and biomass production (table 4).

Table 4

Comparison between agronomic characteristics of *P. graveolens* under different cultivation systems submitted to statistical analysis.

Treatments	Plant height	Crown diameter	Number of stems	Root length	Fresh biomass	Dry biomass
	-----cm-----		un	Cm		
T1	27.6 b	16.5 b	4 b	30.7 b	1855 c	525.7 c
T2	19.3 b	8.9 c	2 c	24.5 b	645 c	189.9 c
T3	18.7 b	7.4 c	2 c	22.8 b	390 d	124.0 c
T4	38.1 a	20.9 a	6 a	41.3 a	2895 a	857.1 a
T5	23.9 b	13.6 b	3 c	30.2 b	890 c	384.9 c
T6	33.0 a	19.9 a	6 a	36.1 a	2645 a	687.7 a
T7	23.7 b	15.5 b	4 b	37.3 a	1335 b	404.3 b

Means followed by the same letter in the column do not differ by the Scott-Knott test at 5% probability.

The type of fertilizer which allowed lower agronomic growth in all aspects analyzed was constituted by biodynamic fertilization (T3), similarly to the data observed in the negative control without any fertilizer (T2). However, the negative control (T2) was able to produce essential oil. The treatments with biodynamic fertilizers, on the other hand, had very low amounts of oil, making any type of analysis impossible. The treatment based on biodynamic fertilization + PGPB (T5) showed an increase in the diameter of the crown and dry biomass through the use of *A. brasilense* bacteria, but the growth was not significant when compared to the other treatments and analyzed parameters (Table 4).

Under the conditions of this present work, such as the soil characteristics of the study area, the growth, content and yield data of *Pelargonium graveolens* submitted to biodynamic fertilization were low or even scarce. According to Brock et al. (2019), it can be inferred that biodynamic preparations are soil enhancers, being necessary to use them associated with other techniques such as green manure or organic compounds. What suggests adding such techniques in future research, in order to optimize the study of fertilization applied in biodynamic crops in the production of *P. graveolens* and essential oils. Although the number of studies regarding biodynamic agriculture are gradually increasing and present positive

evidence on the quality of production, soils, food and sustainability in general, the big question is that, until now, the effects of biodynamic management are generally studied by classical quantitative methods, which can be limiting to the mentioned production system, which proposes a holistic view of cultivation. Therefore, a major challenge for future researches concerning the biodynamic agriculture (Araújo, 2013; Brock et al., 2019).

Plants subjected to the experimental group called positive control, characterized by the use of NPK fertilization (T1), currently the most widely used in agriculture, showed average growth results when compared with the plants to organic fertilizer (T4 and T6) and the negative control, only on soil (T2) (Table 4). However, it was not possible to extract a considerable amount of essential oil from the plants under this type of fertilization, under the conditions of the present experiment.

Plants fertilized with compost (T7), despite having lower height, canopy diameter, and fresh and dry biomass than the plants of the positive control (T1), showed the greatest root growth and provided essential oil production. Mineral fertilizers can induce plant growth and, as a result, increase biomass yield. However, they can reduce the concentration of bioactive components at the same time. This suggests that the volume of biomass is not directly linked to factors such as productivity of essential oils (Herms e Mattson, 1992; Kazimierczak et al., 2015).

Plants obtained from organic fertilization (T4), organic fertilization + PGPB (T6) and compost (T7), showed greater root development, (figure 1), where D, F and G, represent T4, T6 and T7, respectively.

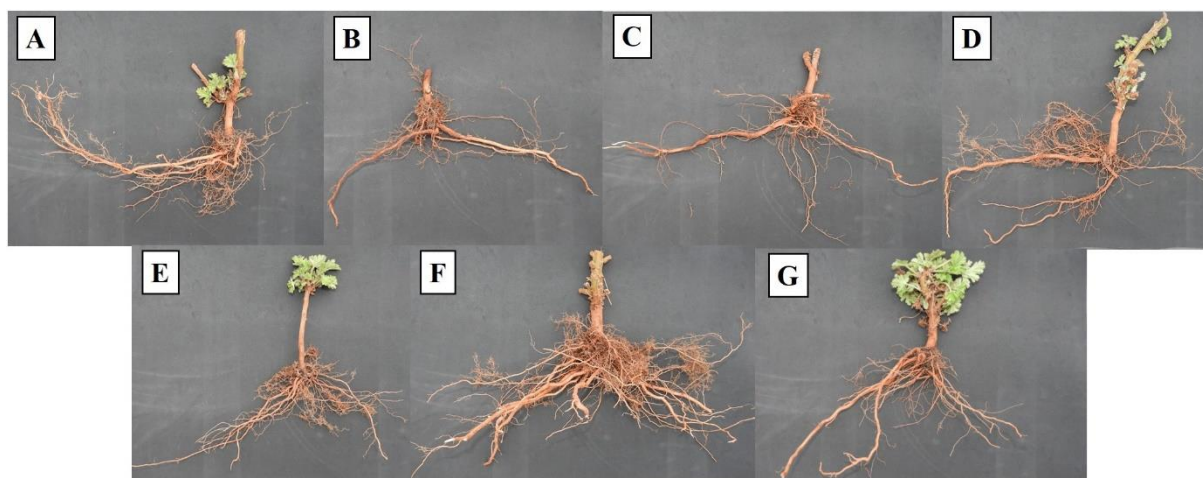


Fig. 1. Development of *P. graveolens* L. roots under different sources of fertilization. A = soil + NPK (T1), B = soil without fertilization (T2), C = soil + biodynamic fertilization (T3), D = soil + organic fertilization (T4), E = soil + biodynamic fertilization + plant growth- promoting

bacteria (T5), F = soil + organic fertilizer + plant growth-promoting bacteria (T6) and G = soil + compost (T7). Bar = 5 cm.

Such results suggest the importance of organic compost for the development of roots. Similar results are observed in the study carried out with the medicinal plant *Andrographis paniculate* which demonstrated a considerably higher yield of the species when using a type of organic compost (vermicompost). The application of organic compost improves fertility and the biological characteristics of soil, and it, consequently, supports the development of roots (Basak et al., 2020).

Data related to plants subjected to the inoculation of *Azospirillum brasilense* in the present study did not result in significant differences in the agronomic growth of *P. graveolens*, in the oil content nor yield of essential oil.

However, the present results are contrasting the study carried out by Riahi et al. (2020), in which the effect of three plant growth-promoting bacteria (*Pseudomonas rhizophila*, *Halomonas desertis* and *Oceanobacillus iheyensis*) on *P. graveolens* was tested alone or in consortium. In this study, the results were significantly positive in parameters related to growth, leaf and root biomass, photosynthetic pigments and production of secondary metabolites. The bacteria were able to increase leaf biomass by more than 40% compared to the control group.

Similarly, a study carried out with *Azospirillum brasilense* on other plant species also demonstrated a positive influence of PGPB on plant growth and development, absorption of nutrients from the soil, tolerance to stresses and increased phytochemical synthesis of compounds of pharmacological interest, as observed in *Foeniculum vulgare* Mill. (Mahfouz e Sharaf-Eldin, 2007), *Matricaria chamomilla* L. (Dastborhan et al., 2012), *Rauwolfia serpentina* (Rai, 2017), *Vaccinium* sp. (Momoli, 2018) and increased productivity of *Zea mays*, being considered a promising practice in soils with low fertility with reduced fertilization and low technological cost (Coelho et al., 2020).

According to Coelho et al. (2020), soils that already have desirable characteristics for plant development and yet receive inoculation with *Azospirillum brasilense* have no impact on plant growth results (Coelho et al., 2020). It is then suggested that plants grown with organic fertilization (T4) e organic fertilization + PGPB (T6), showed similar agronomic development because they already participate in treatments with a compost rich in microorganisms.

The analysis of the results obtained in the present study, allows us to affirm, like Basak (2020), that the organic fertilization, can be considered a promising technology for the production of *Pelargonium graveolens*. This type of fertilization provided greater growth, content and yield of essential oil, under the conditions of this work, in addition to sustainability in the use of natural resources.

Content, yield and chemical composition of geranium essential oil

The essential oils of *Pelargonium graveolens*, obtained by hydrodistillation, showed a light green color and strong odor, not similar to the odor of the fresh leaves. Such characteristics seem to be in agreement with the report by Szutt et al. (2019).

The plants obtained from the positive control treatment, based on N-P-K (T1), showed no essential oil yield. The same occurred in plants under biodynamic fertilizers (T3) e biodynamic fertilizers + PBPG (T5). Therefore, of the seven different forms of fertilization proposed initially, only four of them provided the plants with the conditions for the production of essential oils.

Plants submitted to negative control, only soil (T2), organic fertilization (T4), organic fertilization + BPCP (T6) and compost (T7) had their essential oils submitted to content and yield analysis, as well as composition chemistry (Table 5 and Table 6).

Table 5

Content and yield of the essential oil of *P. graveolens* L. submitted to different sources of fertilization

Cultivation Systems	Content (%)	Yield (g plant ⁻¹)
T1	0.0000	0.0000
T2	0.0275	0.0076
T3	0.0000	0.0000
T4	0.0225	0.0359
T5	0.0000	0.0000
T6	0.0185	0.0218
T7	0.0107	0.0066

According to Lima (2012), the increase in the nitrogen and phosphorus content in the soil favors the essential oil yield in general. However, the metabolic routes of production of monoterpenoids and sesquiterpenoids, which structure these oils, are often subject to abiotic factors. Small daily variations in climate, temperature, humidity, stimulate or reduce its

production. Thus, it is suggested that such factors may have affected the production of essential oils of *Pelargonium graveolens* in plants, even when subjected to fertilization that favored its production.

According to Lis-Balchin (2003), another factor that influences the production of essential oil of geranium is the amount of organic matter present in the soil. The improvement in soil structure and increased microbial activity, due to the decomposition of organic matter, promotes the production of essential oil. In this present study, all the treatments that were contemplated with the use of organic matter presented representative amounts of essential oil.

The treatment using organic fertilization (T4) was the treatment that presented the highest yield of essential oil. However, the highest oil content was in plants cultivated without fertilizer (T2). The increase in the essential oil content in plants without fertilization may be linked to the fact that the essential oil plays a protective role. In this case, the plant in a soil deprived of its nutritional value may have caused an increase in metabolites by protecting the plants in an unfavorable environment (Herms and Mattson, 1992, Boukhris, 2013).

Of the four essential oils obtained from plants subjected to different sources of fertilization, 22 chemical constituents were identified in the gas chromatography analysis listed in order of elution in table 6.

Table 6

List of chemical constituents of the essential oil of *P. graveolens*, under different sources of fertilization

Main Compounds	RT (min)	AI*	AI**	Treatments (area %)			
				T2	T4	T6	T7
Pentan-2-one	3.610	833	831	2.65	1.02	1.17	1.47
Linalool	12.339	1099	1095	1.9	2.79	2.7	1.51
<i>Cis</i> - Rose oxide	12.890	1109	1068	-	3.85	4.03	3.67
<i>Trans</i> - Rose oxide	13.765	1124	1122	2.18	-	1.09	1.01
Isomenthone	15.754	1160	1158	4.59	5.78	5.63	4.48
Citronellol	19.680	1228	1223	18.54	25.23	21.64	20.57
Geraniol	21.230	1253	1249	-	2.16	1.44	-
Citronellyl formate	22.471	1274	1271	12.34	10.25	9.25	11.5
β -Bourbonene	28.882	1379	1387	1.51	1.38	1.89	1.71
Caryophyllene	30.944	1413	1417	6.48	3.73	5.14	5.09
Aristolene	32.462	1438	-	11.95	7.85	8.94	8.76
α -Humulene	32.976	1447	1452	1.31	-	1.12	1.09
Germacrene D	34.640	1471	1480	3.64	2.3	2.27	2.66
Viridiflorene	35.516	1489	1496	-	-	1.61	-

Germacrene B	35.579	1490	1559	2.08	-	-	2.14
δ -cadinene	37.238	1519	1522	2.41	1.77	2.07	2.03
Citronellyl butyrate	37.706	1527	1530	3.5	2.73	2.82	2.78
Geranyl Butyrate	39.601	1560	1562	4.53	3.61	3.89	3.44
Spathulenol	40.230	1571	1577	2.22	1.98	2.33	3.03
Caryophyllene oxide	40.485	1575	1582	2.5	1.85	2.53	2.66
n.i.	40.923	1583	-	5.8	5.11	5.43	6.07
Geranyl Tiglate	47.384	1700	1696	1.58	1.71	1.34	1.21

RT= retention time; AI*= Arithmetic Index; AI**= Arithmetic Index –Adams (2017); n.i.= not identified

The chemical composition of the essential oils was similar, by the identification of the constituents that had more than 1% of composition area. Totalling 91.71%, 83.25%, 88.33% and 86.88% of the area identified in the respective treatments: T2, T4, T6 and T7.

According to Sanwan et al. (2001), the chemical constituents of essential oils are mostly classified into terpenoids, which occurs with greater abundance in the form of monoterpenes and sesquiterpenes, and phenylpropanoids. In view of this, it was observed 4.5% phenylpropanoids, 22.7% oxygenated sesquiterpenes, 31.8% oxygenated monoterpenes and 40.9% sesquiterpenes in geranium essential oils.

The results of chemical composition of the essential oils indicate that the plants of *P. graveolens* grown in different fertilizations produced the same chemical compounds (Table 6). The main differences observed in the composition of the essential oil were related to the relative proportions of the constituents and very little regarding the presence and/or absence of a particular component. corroborating the studies by Szutt et al. (2019), who demonstrated that, despite the influence of environmental conditions, the essential oils also maintained a similarity in their basic composition.

Nevertheless, the composition of the essential oils of *P. graveolens* observed shows some variations when compared to its oils studied in other environments. For example, the essential oils produced in western Iran contained a high amount of citronellol, citronellyl formate, isomenthone and a considerable amount of neral. In the present study, despite containing the first described compounds, the presence of neral was not observed, which also did not occur in the essential oil of geranium found in Central Iran (Nejad et al., 2014).

When comparing the components of the essential oils of geranium found in India, the Indian essential components have the smallest composition of citronellol and citronellyl formate, and greater concentration in geraniol and linalool (Jain et al., 2001). Unlike the composition of the essential oil of the present experiment, in which the amount of linalool and

geraniol was low, or even zero, in plants without fertilization (T2) and in plants that were submitted to compost (T7).

It is well known that the commercial value of geranium essential oil depends on the ratio between the chemical composition of citronellol and geraniol (C:G). A low C:G ratio is a determinant of the quality of the essential oil of *Pelargonium graveolens* L., since the desirable ratio is 1:1. In the present study, this ratio did not reach this parameter, at a perfumery level, but it can still be used by other industries in the manufacture of creams, soaps, personal care products and aromatherapy (Nejad et al., 2014; Bergman et al., 2020).

According to Bergman et al. (2020), the C:G ratio varies with the environment temperature. A desirable C:G ratio correlates with crops subjected to low temperatures, whereas the warmer months favor higher levels of citronellol when compared to geraniol. Thus, this suggests that the low amount of geraniol observed in the present study may be related to heat, since the cultivation took place in the spring period, under high temperatures. These results corroborate the study of Fekri et al. (2019) which reports the seasonal influence on the essential oil of *P. graveolens*. The chemical composition of three cultivars of the species, analyzed during different seasons, showed variation in the C:G ratio, having the best ratio during winter.

It is worth mentioning that the chemical composition is also directly related to genetic factors. Accordingly, it is suggested the search for cultivars rich in geraniol and citronellol, since they give a greater fragrance of roses, while cultivars with a higher composition of isomenthone have more mentholated aromas and these have a lower market value (Bergman et al., 2020).

Therefore, the major chemical constituents observed in *Pelargonium graveolens* in the conditions of cultivation of the present work were citronellol (18.54%; 25.23%; 21.64% and 20.57%), citronellyl formate (12.34%; 10.25%, 9.25% and 11.5%), aristolene (11.95%; 7.85%; 8.94% and 8.76%), caryophyllene (6.48%; 3.73% ; 5.14% and 5.09%) and isomenthone (4.59%; 5.78%; 5.63% and 4.48%). The percentages above refer to T2, T4, T6 and T7, respectively.

In general, Juliani et al. (2006) described the presence of citronellol, geraniol, linalool, isomenthone, citronellyl formate, citronellyl butyrate, among other compounds, in the essential oils of *P. graveolens* L. According to the analyzes carried out by the author, the results demonstrated the presence of higher levels of citronellol and lower levels of geraniol and linalool in essential oils of organic geraniums in Africa, as in the present study, which presented citronellol as the highest constituent, observed as the major component in the four

treatments. Corroborating the studies by Abouelatta et al. (2020), who also recognized citronellol as a major constituent based on chromatographic analyzes of geranium essential oils.

The second constituent with the largest area presented in the four treatments was citronellyl formate. As well as in analyzes carried out by Juliani et al. (2006) on different varieties of *Pelargonium graveolens* (Gasabo and Rushaki) that also presented citronellyl formate as the second constituent with the highest level of concentration in oils. Unlike Almeida (2009), who despite having found citronellol as a major constituent in populations *in vitro* and in the field of *P. graveolens* L., found that the second most expressive constituent was geraniol, followed by citronellyl formate in the third position.

According to El-Kareem et al. (2020), the main constituents found in the essential oil of *P. graveolens* L. were citronellol, isomenthone, linalool, eudesmol, geranyl formate and rose oxide, mentioned in order of greatest constitution in the oil. Also, according to this author, of all the compounds identified, citronellol, isomenthone and linalool demonstrated considerable antibiotic activity and a high level of antifungal activity. The most active isolated compound in the control of bacteria was citronellol, followed by isomenthone, which was the most active compound against fungi. Due to the several similarities in the phytochemical profile presented in the present study, it is suggested that the oils obtained may also have similar biological activities.

As with essential oils characterized in West and Central Iran, the essential oils in the present study did not present eudesmol in its chemical composition. According to Rao et al. (1996) and Nejad et al. (2014), the variation and composition of certain constituents may be related to the genetic variation of plants and climatic conditions in which they are submitted, since the biosynthesis of compositions of essential oils and terpenoids are not only genetically controlled, but it is also strongly affected by environmental parameters.

Regarding the application of PGPB in the present work, there were no significant differences in the chemical composition, content and yield of essential oils of *P. graveolens* between the treatments with application of *A. brasilense*. In contrast to the results obtained by Riahi (2020) who demonstrated that the application of three plant growth-promoting bacteria (*Pseudomonas rhizophila*, *Halomonas desertis* and *Oceanobacillus iheyensis*) in *P. graveolens* resulted in a significant increase in the amount of secondary metabolites in relation to the control group, as well as in the significant increase in the production of essential oil and compounds of commercial interest. The author indicated the use of inoculants as promising biofertilizers that have great potential to improve the production of

biomass and secondary metabolites of *P. graveolens*, demonstrating itself as an alternative biotechnological tool to limit the excessive use of chemical fertilizers.

According to Rafiee et al. (2016), the yield response to the application of biostimulants, such as efficient microorganisms and growth-promoting bacteria, showed that each medicinal plant reacts differently based on the product used, time-of-use and the application rate. Therefore, the investigations concerning aromatic medicinal plants aiming to observe the interference of these bacteria in the production of secondary metabolites is still limited and in progress, requiring further studies. Specialized studies on biodynamic fertilization and application of *A. brasilense* in *P. graveolens* are necessary for production of essential oil.

The PCA results (Scores and Loadings) provided a conceptual overview of the treatments, as they explained 93.02% of the total variance (PC1+PC2) (Figure 2). From this global assessment, it could be observed that the contents of chemical compounds, essential oil yield and dry biomass were different in plants cultivated without fertilization or with different sources of fertilizers.

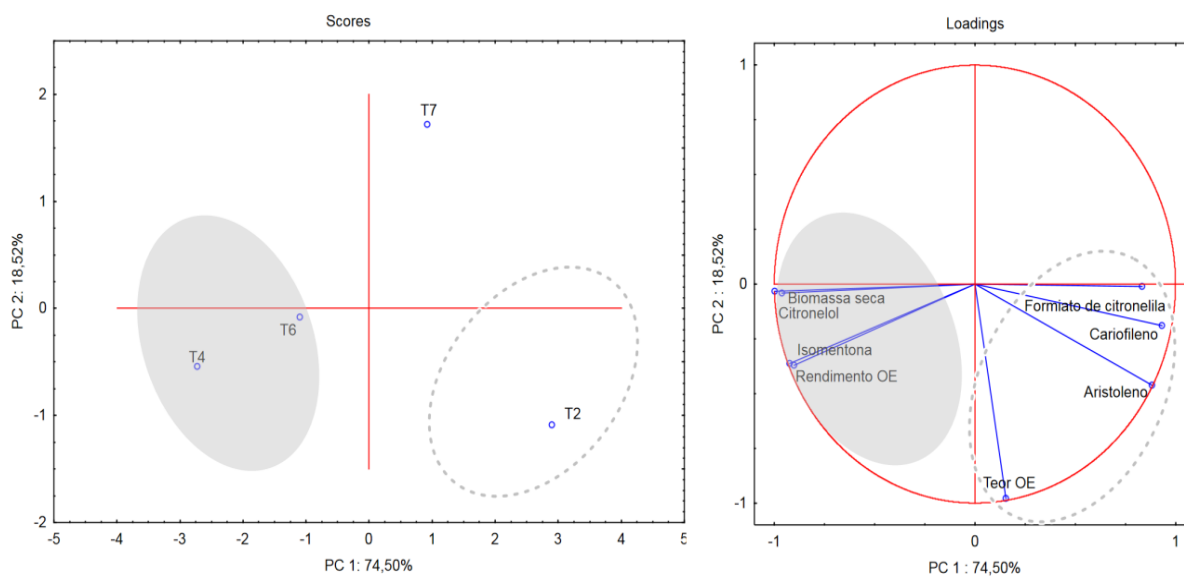


Fig 2. Analysis of main components in dry biomass, content, yield and volatile chemistry of *P. graveolens* essential oil as a function of fertilization management.

The main component 1 (PC1) represented 74.50% of the total data variation, with the formation of two groups (on the left, with negative PC1 values and on the right, with positive PC1 values). The left group consisted of treatments with organic fertilization and organic fertilization + BPCPs (T4 and T6). The group on the right was represented by plants cultivated without fertilization (T2).

The Loadings analysis shows that organic fertilization and organic fertilization + BPCPs (left group) had a positive influence on dry biomass gain, essential oil yield, citronellal and isomentone contents. On the other hand, plants grown without fertilization (right group) had higher essential oil content in the leaves and increased aristolene, caryophyllene and citronellil formate contents.

The principal component 2 (PC2) represented 18.52% of the variation, separating the use of fertilization compound other treatments. However, none of the variables evaluated were associated with this treatment (T7). Plants submitted to fertilization with N-P-K (T1), biodynamic fertilization (T3) and biodynamic fertilization + PGPB (T5) did not integrate the analysis due to the absence of representativeness of their essential oil. Therefore, the present study showed the growth and production of essential oil from *Pelargonium graveolens* can be significantly altered due to fertilization management.

4. Conclusions

The organic fertilization can be considered a promising technology for cultivation of *Pelargonium graveolens*. In addition to sustainability in the use of natural resources, this treatment demonstrated greater agronomic growth, content and yield of essential oil.

Under the conditions of the present work, cultivation based on fertilization with N-P-K and based on biodynamic fertilization did not provide essential oil production; and inoculation with *Azospirillum. brasilense* did not influence the agronomic characteristics, content and yield of essential oil in *P. graveolens*.

Final considerations

It is suggested, for future researches, that there is some adaptation in the types of fertilization sources to be tested, such as the addition of organic matter sources in the soil in the other treatments and tests with different inoculant, time-of-use and the application rate.

Acknowledgements

We would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), the Federal University of Lavras (UFLA) and Paulista State University (UNESP) for all the financial support.

References

Abouelatta AM, KeratumAY, AhmedSI, El-Zun HM.2020. Repellent, contact and fumigant activities of geranium (*Pelargonium graveolens*L.'hér) essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica*. International Journal of Tropical Insect Science. 40, 1021–1030.<https://doi.org/10.1007/s42690-020-00161-4>

Adams RP.2017. Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation.Baylor University. Texas. USA.

Almeida SA. 2009. Micropropagation, essential oil content and chemical composition of geranium (*Pelargonium graveolens* L.). 76 p. Dissertation – Master Program in Agroecosystems. Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE.

Altieri MA, Nicholls CI, HenaoA, Lana MA. 2015. Agroecology and the design of climate change-resilient farming systems. Agronomy for sustainable development, 35(3): 869–890.<https://doi.org/10.1007/s13593-015-0285-2>

ANVISA.National Health Surveillance Agency, 2016. Analysis of pesticide residues in herbal medicines: questions and answers. 1st edition.

AraújoJS. 2013. Contributions of biodynamic agriculture to drug innovation based on Brazilian biodiversity: biodynamic preparations and lunar cycle. Course Conclusion Paper (Specialization) -Pharmaceuticals Technology Institute / Farmanguinhos, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro. Brazil.

AsgarpanahJ, Ramezanloo F. 2015. Phytopharmacology summary of *Pelargonium graveolens* L. Indian Journal of Traditional Knowledge, 14 (4): 558–563.

Basak BB, Jat RS, Gajbhiye NA, Saha A, Manivel P. 2020. Organic nutrient management through manures, microbes and biodynamic preparation improves yield and quality of Kalmegh (*Andrographis paniculata*), and soil properties. Journal of Plant Nutrition, 43(4): 548–562.<https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1685100>

Benelli G,Pavela R, Canale A, Cianfaglione K, Ciaschetti G, Conti F, Maggi F.2017.Acute larvicidal toxicity of five essential oils (*Pinus nigra*, *Hyssopus officinalis*, *Satureja montana*, *Aloysia citrodora* and *Pelargonium graveolens*) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus*: Synergistic and antagonistic effects. Parasitology international, 66(2): 166–171.<http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2017.01.012>

Bengtsson J, Ahnström J, Weibull AC. 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. Journal of applied ecology, 42(2):261–269.<https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x>

Bergman ME, Chávez Á, Ferrer A, Phillips MA. 2020. Distinct metabolic pathways drive monoterpenoid biosynthesis in a natural population of *Pelargonium graveolens*. Journal of Experimental Botany, 71(1): 258–271.<https://doi.org/10.1093/jxb/erz397>

Bertalot MJA,Carvalho-Pupatto JG,Furtado EL,Rosa DD,Mendoza E,LimaABD. 2010. Alternative methods for controlling fungal diseases on crop Jambu (*Spilanthes oleracea* L.) by Equisetum spp prepared and bio 501. Brazilian Journal of Agroecology, 5(2):264–274.

Boukhatem MN, Kameli A, Saidi F. 2013. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. *Food Control*, 34(1): 208–213. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.045>

Boukhris, Maher, et al. 2013. Trichomes morphology, structure and essential oils of *Pelargonium graveolens* L'Hér. (Geraniaceae). *Industrial crops and products*, 50: 604-610. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.029>

Brazil (2003). Law n° 10.831, december 23, 2003: Provides for organic farming and makes other provisions. Published in the Official Gazette of 12/24/2003. <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/lei-no-10-831-de-23-de-dezembro-de-2003.pdf/view>.

Brock C, Geier U, Greiner R, Olbrich-Majer M, Fritz J. 2019. Research in biodynamic food and farming—a review. *Open Agriculture*, 4(1): 743–757. <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0064>

Can E, Kizak V, Can ŞŞ, Özçiçek E. 2018. Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. *Aquaculture*, 491, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.013>

Carpenter-Boggs L, John P, Reganold JP, Kennedy AC. 2000. Biodynamic preparations: Short-term effects on crops, soils, and weed populations. *American Journal of Alternative Agriculture*, 15, 110–118. <http://dx.doi.org/10.1080/01448765.2000.9754852>

Coelho S, Galvão J, Giehl J, De Jesus É, Mendonça B, Campos S, Brito LF, Santos TR, Dourado ER, Kasuya MCM, Silva MCS, Cecon P. 2020. *Azospirillum brasilense* increases corn growth and yield in conventional low input cropping systems. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1017/S1742170520000241>

Dastborhan S, Zehtab-Salmasi S, Nasrollahzadeh S, Tavassoli AR. 2011. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria and nitrogen fertilizer on yield and essential oil of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants IMAPS2010 and History of Mayan Ethnopharmacology*, 964, 121–128. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.964.15>

Dorman HJD, Deans SG. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88 (2):308–316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>

European Pharmacopoeia. Pesticide residues 2016. General chapter 2.8.13. Ph. Eur., 9th edition. Council of Europe, Strasbourg, France.

El-Garawani I, El Nabi SH, Nafie E, Almeldin S. 2019. *Foeniculum vulgare* and *Pelargonium graveolens* essential oil mixture triggers the cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 cells. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 19 (9): 1103–1113. <https://doi.org/10.2174/1573399815666190326115116>

El-Kareem SM, Abd MA, RabbihM, Elansary HOA, Al-Mana F. 2020. Mass spectral fragmentation of *Pelargonium graveolens* essential oil using GC–MS semi-empirical calculations and biological potential. *Processes*, 8(2):128. <https://doi.org/10.3390/pr8020128>

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2018). The 10 elements of agroecology. Guiding the transition to sustainable food and agricultural systems.

Fekri N, El Amir D, Owis A, Abouzid S. 2019. Studies on essential oil from rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens* L'Hérit (Geraniaceae). *Natural product research*, 1-5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1682581>

Ferreira DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(6):1039–1042. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

Gliessman SR. 2005. *Agroecology: ecological processes in sustainable agriculture*. 3. ed. UFRGS. Porto Alegre. Brazil.

Gucwa K, Milewski S, Dymerski T, Szweda P. 2018. Investigation of the antifungal activity and mode of action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* essential oils. *Molecules*, 23(5): 1–18. <https://doi.org/10.3390/molecules23051116>

Herms DA, Mattson WJ. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Rev Biol*. 67, 283–335.

Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Marshall V, Hamidpour R. 2017. *Pelargonium graveolens* (Rose Geranium)-A novel therapeutic agent for antibacterial, antioxidant, antifungal and diabetics. *Arch Cancer Res*, 5, 1–5. <https://doi.org/10.21767/2254-6081.1000134>

Heimler D, Vignolini P, Arfaioi P, Isolani L, Romani A. 2012. Conventional, organic and biodynamic farming: differences in polyphenol content and antioxidant activity of *Batavia lettuce*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3): 551–556. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2826-6>

Heydari N, Mirazi N. 2016. Study of antinociceptive effects of *Pelargonium graveolens* L. leaves hydroethanolic extract in male mice. *Armaghane danesh*, 20(11): 972–984.

Jain N, Aggarwal K, Syamasundar K, Srivastava S, Kumar S. 2001. Essential oil composition of geranium (*Pelargonium* sp.) from the plains of northern India. *Flav Fragr*, 16, 44–46. [https://doi.org/10.1002/1099-1026\(200101/02\)16](https://doi.org/10.1002/1099-1026(200101/02)16)

Jariene E, Vaitkeviciene N, Danilcenko H, Gajewski M, Chupakhina G, Fedurajev P, Ingold R. 2015. Influence of biodynamic preparations on the quality indices and antioxidant compounds content in the tubers of coloured potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43, 392–397. <https://doi.org/10.15835/nbha4329695>

Juliani HR, Koroch A, Simon J, Hitimana N, Daka A, Ranarivelo L, Langenhoven P. 2006. Quality of geranium oils (*Pelargonium* species): case studies in Southern and Eastern

Africa. Journal of essential oil research, 18, 116–121.<https://doi.org/10.1080/10412905.2006.12067131>

Kazimierczak R, Hallmann E, Rembiałkowska E. 2015. Effects of organic and conventional production systems on the content of bioactive substances in four species of medicinal plants. *Biological Agriculture & Horticulture*, 31(2): 118–127.<https://doi.org/10.1080/01448765.2014.977948>

Kujur A, Kumar A, Yadav A, Prakash B. 2020. Antifungal and aflatoxin B1 inhibitory efficacy of nanoencapsulated *Pelargonium graveolens* L. essential oil and its mode of action. *LWT*, 109619.<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109619>

Letourneau DK, Bothwell SG. 2008. Comparison of organic and conventional farms: challenging ecologists to make biodiversity functional. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(8): 430–438.<https://doi.org/10.1890/070081>

LimaHRP, Kaplan MAC, Cruz AVM. 2012. Influence of abiotic factors on the production and variability of terpenoids in plants. *Forest and Environment*, 10(2): 71–77.

Lis-Balchin, M. 2003. History of the nomenclature, use and cultivation of the species of *Geranium* and *Pelargonium*. *Geranium and Pelargonium: History of nomenclature, use and cultivation*, 5–10.

Lohani A, Mishra A, Verma A. 2019. Cosmeceutical potential of geranium and calendula essential oil: Determination of antioxidant activity and in vitro sun protection factor. *Journal of cosmetic dermatology*, 18(2): 550–557.<https://doi.org/10.1111/jocd.12789>

Mahfouz SA, Sharaf-Eldin MA. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, 21, 361–366.

Masullo M, Montoro P, Mari A, Pizza C, Piacente S. 2015. Medicinal plants in the treatment of women's disorders: Analytical strategies to assure quality, safety and efficacy. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 113, 189–211.<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.03.020>

Mazzei R, Leonti M, Spadafora S, Patitucci A, Tagarelli G. 2020. A review of the antimicrobial potential of herbal medicines used in Italian folk medicine (1850–1950) to treat bacterial skin diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 250, 112443.<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112443>

Moutaouafiq S, Farah A, Ez Zoubi Y, Ghanmi M, Satrani B, Bousta D. 2019. Antifungal Activity of *Pelargonium graveolens* Essential Oil and its Fractions Against Wood Decay Fungi. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4): 1104–1114.<https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1646164>

Nejad RA, Ismaili A. 2014. Changes in growth, essential oil yield and composition of geranium (*Pelargonium graveolens* L.) as affected by growing media. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(5): 905–910.<https://doi.org/10.1002/jsfa.6334>

- Nyakane NE, Sedibe MM, Markus E. 2019. Growth Response of Rose Geranium (*Pelargonium graveolens* L.) to Calcium: Magnesium Ratio, Magnetic Field, and Mycorrhizae. *HortScience*, 54(10): 1762–1768. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14248-19>
- Ong TWY, Liao W. 2020. Agroecological transitions: a mathematical perspective on a transdisciplinary problem. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 91. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00091>
- Parpinello GP, Ricci A, Rombolà AD, Nigro G, Versari A. 2019. Comparison of Sangiovese wines obtained from stabilized organic and biodynamic vineyard management systems. *Food chemistry*, 283, 499–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.073>
- Pereira MMA, Morais LC, Marques EA, Martins AD, Cavalcanti VP, Rodrigues FA, Gonçalves WM, Blank AF, Pasqual M, Dória J. 2019. Humic Substances and Efficient Microorganisms: Elicitation of Medicinal Plants—A Review. *Journal of Agricultural Science*, 11(7):268-280. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n7p268>
- Peterson A, Machmudah S, Roy BC, Goto M, Sasaki M, Hirose T. 2006. Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 81(2): 167–172. <https://doi.org/10.1002/jctb.1375>
- Rafiee H, Naghdi Badi H, Mehrafarin A, Qaderi A, Zarinpanjeh N, Sekara, A., Zand, E., 2016. Application of plant biostimulants as a new approach to improve the biological responses of medicinal plants - a critical review. *Journal of Medicinal Plants*.3(59): 6–39.
- Rai A, Kumar S, Baudhh K, Singh N, Singh RP. 2017. Improvement in growth and alkaloid content of *Rauwolfia serpentina* on application of organic matrix entrapped biofertilizers (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas putida*). *Journal of Plant Nutrition*, 40, 2237–2247. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1222419>
- Ramos RF. 2004. Productive, economic and energy comparisons of conventional, organic and biodynamic systems for cultivating sweet potatoes (*Ipomoea potatoes*). Master's dissertation - School of Agronomic Sciences at UNESP - Botucatu Campus. São Paulo.
- Rao BR, Kaul PN, Mallavarapu GR, Ramesh S. 1996. Effect of seasonal climatic changes on biomass yield and terpenoid composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* species). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(7-8): 627–635. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(96\)00071-3](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(96)00071-3)
- Rauta J, Fagundes RJ, Sehnem S. 2014. Environmental management from biodynamic production: An alternative to sustainability in a Santa Catarina winery. *Journal of Environmental Management and Sustainability*, 3, 135–154.
- Riahi L, Cherif H, Miladi S, Neifar M, Bejaoui B, Chouchane H, Cherif A. 2020. Use of plant growth-promoting bacteria as an efficient biotechnological tool to improve the production of biomass and secondary metabolites from the industrial culture *Pelargonium graveolens* L'Hérin semi-controlled conditions. *Industrial crops and products*, 154, 112721. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112721>

Santos MK, Kreutz T, Danielli LJ, De Marchi JGB, Pippi B, Koester LS, Limberger RP. 2020. A chitosan hydrogel-thickened nanoemulsion containing *Pelargonium graveolens* essential oil for treatment of vaginal candidiasis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 56, 101527. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101527>

Santos JO, Santos RMS, Fernandes AA. 2013. Alternative agro-ecological production systems. *Journal ACSA*, 9, 1–8.

Sanwan NS, Farooqi AHA, Shabih FE, Sangwan RS. 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant growth regulation*, 34 (1): 3–21.

Saraiva LC, Matos AFIM, Cossetin LF, Couto JCM, Santos L, Monteiro SG. 2020. Insecticidal and repellent activity of geranium essential oil against *Musca domestica* and *Lucilia cuprina*. *International Journal of Tropical Insect Science*, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00137-4>

Silva FDA, Azevedo CD. 2009. Main components analysis in the software assistat-statistical attendance. *World congress on computers in agriculture*. 7, 22–24.

Szutta A, Dołhańczuk-Śródka A, Sporek M. 2019. Evaluation of chemical composition of essential oils derived from different *Pelargonium* species leaves. *Ecological Chemistry and Engineering*, 26(4): 807–816. <https://doi.org/10.1515/eces-2019-0057>

Thakur M, Bhattacharya S, Khosla PK, Puri S. 2019. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 12, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.11.004>

Tittarelli F. 2020. Organic Greenhouse Production: Towards an Agroecological Approach in the Framework of the New European Regulation—A Review. *Agronomy*, 10(1): 72, 1–12. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010072>

CAPÍTULO 4

Fontes de adubação influenciam a anatomia foliar e conteúdo de pigmentos fotossintéticos de *Pelargonium graveolens* L.'Hér (gerânio)

Resumo

Objetivou-se avaliar a influência de fontes de adubações nas características anatômicas e pigmentos fotossintéticos de folhas de *Pelargonium graveolens* L. As plantas foram cultivadas sob efeito de sete tratamentos: T1) solo + N-P-K; T2) solo sem adubação; T3) solo + adubação biodinâmica; T4) solo + adubação orgânica; T5) solo+adubação biodinâmica + bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP); T6) solo + adubação orgânica + BPCP e T7) solo + composto. Foram analisadas anatomicamente as espessuras de parênquima paliçádico e lacunoso, epiderme abaxial e adaxial e mesofilo. Além disso, foram determinados em espectrofotômetro os teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides. As diferentes adubações influenciaram significativamente nos parâmetros anatômicos e nos teores de pigmentos de *Pelargonium graveolens*. As plantas submetidas a compostagem (T7) apresentaram maiores espessuras de maneira geral nas características anatômicas foliares avaliadas. Maiores teores de clorofila (*a*, *b* e total) e carotenoides foram obtidos em plantas cultivadas apenas em solo (T2) e no tratamento biodinâmico (T3).

Palavras-chave: Malva cheirosa. Biodinâmica. Compostagem. Plantas medicinais.

1.Introdução

Pelargonium graveolens L.'Hér (família Geraniaceae) é uma espécie de planta medicinal popular devido ao aroma adocicado de rosas, com notas cítricas e mentoladas, proveniente do óleo essencial presente na parte aérea da planta (SZUTT et. al., 2019 a). Os compostos químicos majoritários de seu óleo são basicamente: citronelol, geraniol, linalol isomentona, cariofileno e formiato de citronelila (JULIANI et. al., 2006), o que lhe confere grande valor de mercado, com usos na indústria de perfumaria, cosmética, alimentícia e farmacêutica (EL-KAREEM et. al., 2020).

Para a produção de *Pelargonium graveolens* é necessário considerar as características edafocimáticas, fatores bióticos e abióticos e sistema de cultivo em que esteja submetido, visto que alterações na composição química, rendimento, crescimento e desenvolvimento da espécie são observados quando expostas as diferentes condições ambientais (RIAHY et. al., 2020).

Sabe-se que o manejo adotado no cultivo também influencia na composição estrutural da planta, podendo acarretar modificações na anatomia, com alterações na espessura de tecidos, bem como nos conteúdos de pigmentos. Os nutrientes disponíveis no solo compõem moléculas orgânicas importantes, como clorofila, proteínas e princípios ativos. O que resulta em maior ou menor atividade fotossintética, ou seja, alterações no crescimento e desenvolvimento das plantas e conseqüentemente na produtividade (TAIZ E ZEIGER, 2009).

Estudos feitos com plantas medicinais apontam que o tipo de adubação, comparando esterco bovino e avícola, influenciaram significativamente os teores de clorofila e parâmetros anatômicos, como espessura das epidermes adaxial e abaxial e em parênquimas paliçádico e lacunoso, na cultura do orégano (*Origanum vulgare L.*, família Lamiaceae) (CORRÊA, 2009). No cultivo do cafeeiro, diferentes adubações também provocaram diferenças na estrutura interna, anatomia foliar e fisiologia, o que demonstra a importância da nutrição equilibrada visando maior produtividade (GAMA, 2015).

Em testes realizados com a planta medicinal estévia (*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni, Asteraceae), muito utilizada como substituta do açúcar, Vafadar et. al. (2014) observaram que diferentes sistemas de cultivo influenciaram a produção vegetal, metabólitos secundários e conteúdo de clorofila, possibilitando a obtenção de resultados positivos no uso de bactérias promotoras de crescimento em plantas em sinergia aos fungos micorrízicos.

Segundo a ANVISA (2016), as plantas medicinais devem ser cultivadas preferencialmente em manejo sustentável, sem a utilização de agroquímicos, o que vai de encontro à proposta da farmacopeia Europeia, que limita a presença de resíduos tóxicos em produtos vegetais (Ph. Eur., 2016). O uso de agroquímicos em função de maiores rendimento e desenvolvimento de plantas, principalmente utilizadas com fins medicinais é questionável, devido ao impacto negativo destes na saúde humana e no meio ambiente de maneira geral (RIahi et. al., 2020).

Desta forma, são conhecidos diversos sistemas de cultivo, como a agricultura orgânica, agricultura biodinâmica e outras fontes de adubação, que assumem papel sustentável e podem ser utilizados como alternativas de manejo de plantas (ONG E LIAO, 2020). A agricultura orgânica surgiu na Inglaterra através de trabalhos de Albert Howard, observador da agricultura na Índia e da cultura hinduísta. Seus trabalhos resultaram no desenvolvimento do conceito de composto, tendo este como tecnologia fundamental para o manejo de plantas. Já a agricultura biodinâmica surgiu na Alemanha pelo filósofo e cientista Rudolf Steiner. Algumas das tecnologias propostas por este sistema de cultivo é a utilização de preparados

biodinâmicos e o seguimento de um calendário astronômico como norteador das atividades a serem realizadas na cultura (KHATOUNIAN, 2001).

Outra tecnologia agrícola sustentável que tem sido utilizada atualmente no desenvolvimento de culturas é a de bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP), a exemplo da bactéria *Azospirillum brasilense* que tem apresentado resultados positivos, como fixação de nitrogênio (HUNGRIA, 2011). Estudos demonstram que o uso das BPCPs na produção de plantas medicinais podem contribuir com a biossíntese de metabólitos secundários, bem como favorecer o aumento da absorção de nutrientes, crescimento e desenvolvimento agrônomico em diversas espécies vegetais (PEREIRA et. al., 2019).

Sendo assim, emerge a necessidade da elaboração de um sistema de cultivo estratégico que favoreça a produção do gerânio e seus metabólitos secundários de interesse comercial a partir de adubações sustentáveis. Visando as inter-relações entre anatomia vegetal, fisiologia e produção vegetal. Dessa forma, objetivou-se avaliar a influência de fontes de adubações nas características anatômicas e pigmentos fotossintéticos de folhas *Pelargonium graveolens*.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do Setor de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura - Universidade Federal de Lavras (DAG/ESAL/UFLA), Lavras-MG, Brasil, no período de 26 de março à 14 de outubro de 2019.

Uma exsicata da espécie *Pelargonium graveolens* foi depositada no herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) com o número de registro 58885.

As mudas foram produzidas por estaquia a partir de plantas matrizes pertencentes ao Horto de Plantas Medicinais da UFLA (21013' 48.8" S; 44058' 28.5" W; 921 m) e plantadas em bandejas plásticas de 128 células contendo substrato comercial Plantmax®. Após 40 dias de crescimento, as mudas foram transplantadas para o campo.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados contendo sete tratamentos e três repetições com cinco plantas em cada repetição (Tabela 1).

Tabela 1: Tratamentos aplicados no experimento.

Tratamentos	Adubações
T1	SOLO + NPK (4-14-8) - Convencional
T2	SOLO sem adubações - Testemunha
T3	SOLO + Adubação Biodinâmica

T4	SOLO + Adubação Orgânica
T5	SOLO + Adubação Biodinâmica + BPCP*
T6	SOLO + Adubação Orgânica+ BPCP*
T7	SOLO + Composto

*Bactéria promotora de crescimento em plantas. Fonte: elaborado pelos autores (2021).

2.1 Tratamentos aplicados no experimento

2.1.1 Controle positivo e negativo

O controle positivo constituiu na aplicação de 60 g m^{-2} de N-P-K (4-14-8) (T1), enquanto o controle negativo correspondeu a ausência do adubo (T2).

2.1.2 Adubação biodinâmica

A adubação biodinâmica (T3 e T5) consistiu na aplicação de preparados biodinâmicos adquiridos da Associação Brasileira de Agricultura Biodinâmica. Os preparados utilizados foram o 500 (chifre e esterco), 501 (sílica e esterco) e fladem. Os preparados 500 (0,05 g em 20 mL de água, por tratamento, dinamizados por 1 h) e fladem (0,05 g em 20 mL de água, por tratamento, dinamizados por 20 min) foram incorporados ao solo antes do plantio. Após o plantio no início do desenvolvimento vegetativo das plantas, foi aplicado via foliar o preparado 501 (0,06 g L^{-1} dinamizados por 1 h e pulverizados direcionados para cima por 3 dias seguidos). As quantidades e formas de aplicação foram baseadas nos valores médios sugeridos pela Associação Brasileira de Agricultura Biodinâmica (ABD, 2020).

2.1.3 Adubação orgânica

A adubação orgânica (T4 e T6) consistiu, inicialmente, em nutrição via solo com composto orgânico (10 L m^{-2}). O composto foi formulado a partir de esterco bovino, palha de café e vinhaça de cana; termofosfato Yoorin® (400 g m^{-2} - baseado nos valores médios indicados pelo fabricante (Yoorin Fertilizantes) - 4000 kg ha^{-1}) e silicato de magnésio (50 g m^{-2} , recomendação média de 500 kg ha^{-1}) como fonte de silício. Após adaptação das plantas em campo e início do desenvolvimento vegetativo, foi realizada a adubação via foliar, com aplicação a cada quinze dias com Quimifol Florada® e Supa Trace®, contendo cálcio e micronutrientes de baixa solubilidade como boro, molibdênio, zinco, manganês e cobre (2 mL L^{-1} de água de acordo com a recomendação).

2.1.4 Composto

O tratamento contendo solo mais adição de composto (T7) consistiu na aplicação de composto orgânico incorporado ao solo (10 L m^{-2}). O composto utilizado foi formulado a partir de esterco bovino, palha de café e vinhaça de cana.

2.1.5 Inoculação de bactérias promotoras de crescimento (BPCP)

A inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) da espécie *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg & Döbereiner, 1978 (Rhodospirillaceae) foi realizada concomitante às adubações biodinâmicas e orgânicas (T5 e T6). Foi feita incorporação de 50 mL por planta com população de 10^8 de *A. brasilense* a cada 15 dias nos tratamentos correspondentes.

Para a multiplicação do microrganismo, foi utilizado o caldo nutriente preparado com 5 g L^{-1} de peptona, 3 g L^{-1} de extrato de carne e 5 g L^{-1} de NaCl; e dividido em 4 recipientes em diferentes proporções: Eppendorf (1 mL), tubo Falcon (9 mL), Erlenmeyer (90 mL) e garrafa de vidro temperado (900 mL). Os recipientes contendo o caldo nutriente foram autoclavados e mantidos à temperatura ambiente. A bactéria *Azospirillum brasilense* foi fornecida pelo CCMA (Coleção de Cultura de Microbiologia Agrícola) da UFLA, na qual é mantida refrigerada em placa de Petri em meio sólido. Esta foi repicada para o primeiro recipiente contendo o caldo nutritivo (Eppendorf – 1 mL), permanecendo por 24 h em mesa agitadora até a transferência do conteúdo para o próximo recipiente de maior volume, que também foi mantido por 24 h em mesa agitadora e assim, de forma sucessiva, até o recipiente de 900 mL. O conteúdo final do recipiente foi aplicado no solo após 24 h de descanso em temperatura ambiente.

2.2 Análises anatômicas

Para realização das análises anatômicas, foram selecionadas duas folhas por planta de *Pelargonium graveolens* completamente expandidas, livres de patógenos e herbivoria, retiradas do terço médio das plantas, totalizando 10 folhas por tratamento. As folhas foram fixadas em etanol 70% (JENSEN, 1962) antes do preparo das amostras.

Das folhas fixadas, cinco foram utilizadas aleatoriamente nas secções transversais. Em função dos 7 tratamentos avaliados, foram preparadas 35 lâminas.

As secções transversais foram retiradas da região mediana da folha, entre a nervura mediana e o bordo foliar, em fragmentos de aproximadamente 4 cm^2 . Destes fragmentos foram feitas secções à mão livre, clarificadas em solução de hipoclorito de sódio à 50% por 1 min, e posteriormente, realizada a tríplice lavagem em água deionizada por 10 min

aproximadamente. Em seguida, as secções foram coradas com Safra-blau (corante a base de safranina 5% e azul de Astra 95%), segundo metodologia de Bukatsch (1972). As lâminas semi-permanentes foram montadas com água glicerinada 50%, contendo 10 secções por lâmina (PURVIS et al., 1964).

Cinco medições por lâmina foram realizadas em regiões internervurais, totalizando 25 medições por tratamento. As lâminas foram observadas em microscópio óptico Motic BA 210 com câmera acoplada Moticom 5. As imagens foram analisadas pelo software Motic Images Plus 2.0 ML, no aumento de 10x, e medidas as espessuras do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso (esponjoso), epiderme abaxial, epiderme adaxial e mesofilo.

2.3 Análise de pigmentos

A análise de pigmentos foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do DAG /UFLA).

Folhas frescas ($\pm 0,050$ g) de gerânio foram transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de acetona 80% para extração de pigmentos fotossintéticos. Os tubos de ensaio foram envoltos por papel alumínio a fim de se evitar o contato da amostra com a luz e impedir a degradação dos pigmentos. Após 24 h em geladeira à $\pm 4^{\circ}\text{C}$, foi mensurada a absorvidade das amostras em espectrofotômetro Elisa Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific) nos comprimentos de onda 470, 645, 652 e 663 nm segundo metodologia de Scopel et al. (2011).

Para a determinação dos teores de clorofila a, b, total e carotenoides foram utilizadas equações propostas por Lichtenthaler e Wellburn (1983) e Zhang et al. (2009). As leituras dos comprimentos de onda foram realizadas em triplicada, utilizando-se 3 repetições por tratamento. A análise foi realizada por meio o programa Skanit Software 5.0 for Microplate Readers RE versão 5.0.0.42.

2.4 Análises estatística

Para comparação dos resultados, previamente, foram realizados os testes de homocedasticidade e normalidade pelo software ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2009). Os dados foram submetidos às análises de variância pelo teste F e comparação das médias pelo teste de Scott-Knott pelo software SISVAR (FERREIRA, 2011).

3. Resultados e Discussão

A partir das análises anatômicas nas folhas de *Pelargonium graveolens*, foi observado que as diferentes fontes de adubação promoveram diferenças significativas entre as espessuras

dos componentes avaliados nas folhas. Evidentemente há relação entre a organização estrutural e a nutrição vegetal. Quando a planta recebe ou deixa de receber certos macro e micronutrientes pode-se observar alterações em sua estrutura (SILVA et al., 2005).

Em relação à epiderme, tecido de revestimento e proteção da planta, por estar em contato direto com o ambiente, fica sujeita a tais modificações estruturais de acordo ao ambiente em que está submetida (SILVA et al., 2005). Desta forma, foram observadas diferenças na espessura do tecido epidérmico no presente trabalho. Maiores valores de espessura ocorreram nas plantas submetidas aos tratamentos à base de adubação biodinâmica (T3), adubação biodinâmica + BPCP (T5) e compostagem (T7) na epiderme adaxial, bem como na epiderme abaxial, acrescentando as plantas submetidas ao solo sem adição de adubos (T2) (Tabela 2).

Tabela 2. Espessura da epiderme da face adaxial, epiderme abaxial, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso e mesofilo de folhas de *Pelargonium graveolens* submetido as diferentes fontes de adubação.

Tratamentos	Adaxial (μm)	Abaxial (μm)	Paliçádico (μm)	Lacunoso (μm)	Mesofilo (μm)
T1	25.924 b	19.276 b	62.520 b	59.728 c	122.248 c
T2	24.872 b	23.852 a	67.644 a	51.240 d	118.884 c
T3	28.116 a	22.528 a	58.332 c	64.464 b	122.796 c
T4	25.496 b	21.312 b	54.152 c	55.200 d	109.352 d
T5	28.212 a	22.864 a	63.348 b	69.040 a	132.388 b
T6	22.708 c	20.424 b	57.540 c	64.600 b	122.140 c
T7	28.344 a	24.596 a	68.892 a	72.180 a	141.072 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Legenda: solo + NPK (T1); solo sem adições (T2), solo + adubação biodinâmica (T3), solo + adubação orgânica (T4), solo + adubação biodinâmica + bactérias promotoras de crescimento em plantas (T5), solo + adubação orgânica + bactérias promotoras de crescimento em plantas (T6) e solo + compostagem (T7).

As plantas submetidas as adubações a base de N-P-K (T1), adubação orgânica (T4) e adubação orgânica + BPCP (T6) apresentaram menor espessura em todos os componentes avaliados. Ao contrário do que foi demonstrado nas plantas submetidas a compostagem (T7), que apresentou maior espessura de maneira geral. Incluindo a maior espessura de mesofilo que constitui-se da totalidade de tecidos que se encontram entre a epiderme e os feixes vasculares (MENEZES et. al., 2006).

Pelas secções transversais realizadas na região mediana das folhas de *Pelargonium graveolens*, foi observado sua característica dorsiventral ou bifacial (Figura 1); que segundo

Cutler et. al. (2011) consiste na disposição dos tecidos de forma organizada em parênquima paliádico próximo a face adaxial e parênquima lacunoso próximo a face abaxial.

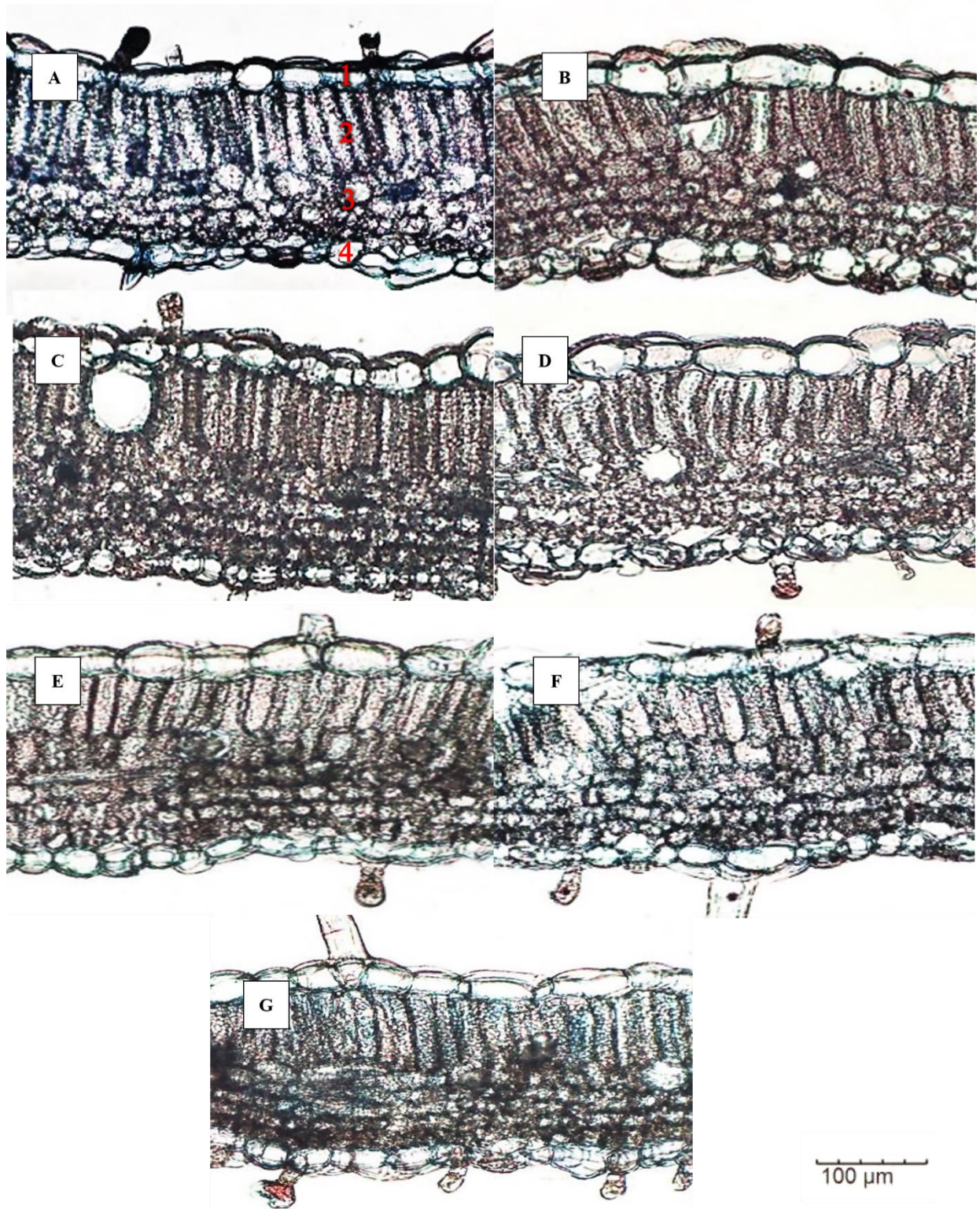


Figura 1: Secções transversais de folhas de *Pelargonium graveolens* em microscopia de luz. A = solo + N-P-K (T1), B = solo sem adubação (T2), C = solo + adubação biodinâmica (T3), D = solo + adubação orgânica (T4), E = solo + adubação biodinâmica + bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) (T5), F = solo + adubação orgânica + BPCP (T6); G =

solo + composto (T7); 1 = epiderme adaxial; 2 = parênquima paliçádico, 3 = parênquima lacunoso e 4 = epiderme abaxial. Barra = 100 μm . Os números referentes na fotomicrografia de letra A também são aplicáveis as figuras B, C, D, E, F e G.

Também foi observado que *Pelargonium graveolens* apresenta epiderme unisseriada com presença de tricomas glandulares, tanto na epiderme adaxial quanto abaxial. Estes tricomas são estruturas de grande importância, visto que são responsáveis pelo armazenamento de seu óleo essencial. A espécie apresenta diversos tipos de tricomas que considerados mecanismos de defesa das folhas contra ataques de patógenos e atração de polinizadores; além de ferramenta taxonômica para identificação das variedades conhecidas (BOUKHRIS et. al., 2013; ROMITELLI e MARTINS, 2013; BLEROT et. al., 2016).

As células da epiderme adaxial são ligeiramente maiores que da epiderme abaxial independente do tratamento utilizado nas plantas de *Pelargonium graveolens*. O parênquima paliçádico, localizado logo abaixo da epiderme adaxial, assim como ela, também foi observado como unisseriado, formado por células alongadas. Já o parênquima lacunoso apresentou várias camadas de células de formato irregular (multiseriado), corroborando com os resultados descritos por Salama et. al (2016) em estudo anatômico realizado com *P. graveolens* cultivados no Egito.

Em relação ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos extraídos das folhas de *Pelargonium graveolens*, foi observado diferença significativa entre os tratamentos. As plantas testemunhas, que não sofreram adição de adubos (T2), e as plantas submetidas a adubação biodinâmica (T3) apresentaram maior teor de clorofila *a* e clorofila *b*. Consequentemente, maior teor de clorofila total, bem como carotenóides (Tabela 3).

Tabela 3. Teor de clorofilas e carotenóides de folhas de *Pelargonium graveolens* submetidas a diferentes fontes de adubação (mg g^{-1} folha fresca).

Tratamentos	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Carotenoides
T1	0,6152 b	0,3972 b	1,0124 b	0,0862 b
T2	0,8502 a	0,5287 a	1,3790 a	0,1170 a
T3	0,8870 a	0,4960 a	1,3830 a	0,1160 a
T4	0,4859 c	0,3427 c	0,8287 c	0,0712 c
T5	0,3613 c	0,2810 c	0,6424 c	0,0558 c
T6	0,4018 c	0,2768 c	0,6787 c	0,0582 c
T7	0,6327 b	0,4273 b	1,0600 b	0,0907 b
CV (%)	28,53	24,01	26,24	25,72

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Legenda: solo + NPK (T1); solo sem adições (T2), solo + adubação biodinâmica (T3), solo + adubação orgânica (T4), solo + adubação biodinâmica + bactérias

promotoras de crescimento em plantas (T5), solo + adubação orgânica + bactérias promotoras de crescimento em plantas (T6) e solo + compostagem (T7).

As plantas do tratamento à base de N-P-K (T1) e a base de compostagem (T7) apresentaram resultados semelhantes, sendo estes os tratamentos que acumularam, em segundo lugar, a maior quantidade dos conteúdos analisados. As plantas submetidas a adubação orgânica (T4), adubação biodinâmica + BPCP (T5) e adubação orgânica + BPCP (T6) apresentaram menor teor de pigmentos fotossintéticos. Estes resultados evidenciam que *Pelargonium graveolens* em condições de apenas solo, sem adição de adubos; e em solos com ação de preparados biodinâmicos proporcionaram maiores teores de clorofila total e carotenoides.

De acordo com Szutt e Dołhańczuk-Śródka (2019 b), a quantidade de clorofila nas plantas de *Pelargonium graveolens* variam de acordo com o tempo de cultivo da espécie. Os dados desses autores mostram que no primeiro ano de crescimento das plantas, o conteúdo de clorofila *a* e *b* é menor do que em todas as outras plantas estudadas cultivadas por dois ou três anos. Sendo que o pico da produção de clorofila se dá no segundo ano de cultivo, o que se sugere que neste tempo as plantas apresentariam maior produtividade.

Outro dado interessante está relacionado a proporção entre a quantidade de clorofila *a* e *b*. Sabe-se que ambas ocorrem juntas nas plantas superiores em uma proporção desejável de 2:1. Esta proporção entre os conteúdos de pigmentos desempenha um papel importante de adaptação das plantas no uso otimizado da luz ambiente e conseqüentemente da sua produtividade (SZUTT e DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA, 2019 b). No presente estudo, a proporção mais próxima de 2:1 foi determinada em plantas submetidas aos tratamentos à base de adubação biodinâmica (T3) e adubação orgânica + BPCP (T6), o que sugere que estes tratamentos podem ser eficazes em se adequar às condições ambientais submetidas.

Isto porque as clorofilas são pigmentos de grande importância, diretamente utilizados pelas plantas para na realização o processo de fotossíntese. A clorofila *a* é o pigmento mais utilizado na fase fotoquímica e a clorofila *b* e carotenoides auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia para os centros de reação nos fotossistemas (STREIT et al., 2005).

A estrutura química destes pigmentos são consideradas instáveis e facilmente degradadas quando expostas a fatores ambientais, ou pelo uso de agroquímicos. Os danos às clorofilas podem conduzir a disfunção celular, lesões ou ainda morte celular; apresentando áreas cloróticas que, em muitos casos, evoluem para necrose e abscisão foliar. Desta forma, a degradação dos pigmentos fotossintéticos interferem na qualidade final e produtividade dos

vegetais (SANTOS e RIBEIRO, 2019). Tais características não foram observadas nas folhas de *Pelargonium graveolens* do presente estudo. As folhas apresentaram características esverdeadas e saudáveis, sugerindo que apesar da diferença entre os conteúdos de pigmentos fotossintéticos nos tratamentos, não foi observado nenhuma taxa de degradação que prejudicasse o cultivo da espécie.

4. Conclusão

As diferentes adubações influenciaram significativamente nos parâmetros anatômicos e nos teores de pigmentos fotossintéticos de *Pelargonium graveolens*. As plantas submetidas a compostagem (T7) apresentaram maior espessura nas características anatômicas foliares avaliadas. Maiores teores de clorofila (*a*, *b* e total) e carotenoides foram obtidos em plantas cultivadas apenas em solo (T2) e no tratamento biodinâmico (T3). A proporção mais próxima de 2:1 entre as clorofilas *a* e *b* foi determinada em plantas submetidas aos tratamentos à base de adubação biodinâmica (T3) e adubação orgânica + BPCP (T6)

Referências

- ABD. Brazilian Biodynamic Association. <https://biodinamica.org.br/>. Accessed on december 17, 2020.
- ANVISA. National Health Surveillance Agency. Analysis of pesticide residues in herbal medicines: questions and answers. 1st edition, 2016.
- BLEROT, B., BAUDINO, S., PRUNIER, C., DEMARNE, F., TOULEMONDE, B., & CAISSARD, J. C. Botany, agronomy and biotechnology of *Pelargonium* used for essential oil production. **Phytochemistry Reviews**, 15(5), 935-960, 2016.
- BOUKHRIS, M., AHMED, CB, MEZGHANI, IMED, BOUAZIZ, M, SAYADI, S. Biological and anatomical characteristics of the rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*, L'HÉR.) Grown in southern Tunisia. Pak. **J. Bot**, 45 (6), 1945-1954., 2013.
- BUKATSCH, F. BERRKUGEN ZUR DOPPELFARBUNG ASTRABALU-SAFRANINS. **Mikokosmos**, v. 6, n. 8, p. 255. 1972.
- CUTLER, D.F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D.W. **Anatomia vegetal: uma abordagem aplicada**. Porto Alegre: Artmed, 30 p., 2011.
- CORRÊA, R. M., PINTO, J. E. B. P., REIS, É. S., OLIVEIRA, C. D., CASTRO, E. M. D., BRANT, R. D. S. Características anatômicas foliares de plantas de orégano (*Origanum*

- vulgare* L.) submetidas a diferentes fontes e níveis de adubação orgânica. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 31(3), 439-444, 2009.
- EL-KAREEM, SM; ABD, MA; RABBIH, M; ELANSARY, HOA E AL-MANA, F. Mass spectral fragmentation of *Pelargonium graveolens* essential oil using GC–MS semi-empirical calculations and biological potential. **Processes**, 8(2), 128, 2020.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA. PESTICIDE RESIDUES. General chapter 2.8.13. Ph. Eur., 9th edition. Council of Europe, Strasbourg, France, 2016.
- FERREIRA, DF. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, 35(6), 1039-1042, 2016.
- GAMA, T.C.P. da. Características anatômicas e fisiológicas de cafeeiros irrigados em diferentes níveis de adubação. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2015.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com Azospirillum brasilense**: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E), 2011.
- JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry**: principles and practice. San Francisco: W.H. Freeman, 408 p., 1962.
- JULIANI, HR; KOROCH, A; SIMON, J; HITIMANA, N; DAKA, A; RANARIVELO, L E LANGENHOVEN, P. Quality of geranium oils (*Pelargonium* species): case studies in Southern and Eastern Africa. **Journal of essential oil research**, 18, 116-121, 2006.
- KHATOUNIAN, C. A. **A reconstrução ecológica da agricultura**. Botucatu: Agroecológica, 2001.
- LICHTENTHALER, H. K., WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**. 603, 591-592, 1983.
- MENEZES, N. L.; SILVA, D. C.; PINNA, G. F. A. M. FOLHA. IN: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, p. 303-326, 2006.
- ONG TWY, LIAO W. Agroecological transitions: a mathematical perspective on a transdisciplinary problem. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 4, 91, 2020.
- PEREIRA, M.M.A., MORAIS, L.C., MARQUES, E.A., MARTINS, A.D., CAVALCANTI, V.P, RODRIGUES, F.A., GONÇALVES, W.M, BLANK, A. F., PASQUAL, M., DÓRIA, J. Humic Substances and Efficient Microorganisms: Elicitation of Medicinal Plants—A Review. **Journal of Agricultural Science**, 11(7): 268-280, 2019. PURVIS, M.J.; COLLIER, D.C.; WALLS, V.L. **Laboratory techniques in botany**. London,

Butterwoths. 371 p., 1964.

RIAHI, L; CHERIF, H; MILADI, S; NEIFAR, M; BEJAOU, B; CHOUCANE, H E CHERIF, A. Use of plant growth-promoting bacteria as an efficient biotechnological tool to improve the production of biomass and secondary metabolites from the industrial culture *Pelargonium graveolens* L'Hér in semi-controlled conditions. **Industrial crops and products**, 154, 112721, 2020.

ROMITELLI, I., MARTINS, M. B. G. Comparison of leaf morphology and anatomy among *Malva sylvestris* (" gerânio-aromático"), *Pelargonium graveolens* (" falsa-malva") and *Pelargonium odoratissimum* ("gerânio-de-cheiro"). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 15(1), 91-97, 2013.

SALAMA, A. M., IBRAHIM, H. M., ABD-EL MAKSOU, H. S., & BOGHADY, M. S. Genetic identification and taxonomic studies on six species of *Pelargonium* in Egypt. **Asian Journal of Plant Science and Research**, 6(3), 55-70, 2016.

SANTOS, C. A. DOS, RIBEIRO, J. C. **Desafios e Sustentabilidade no Manejo de Plantas**. Editora Atena. p.11, 2019.

SCOPEL, W., BARBOSA, J. Z., VIEIRA, M. L. Extração de pigmentos foliares em plantas de canola. **Unoesc & Ciência -ACET**. 2 (1), 87-94, 2011.

SILVA F.D.A., AZEVEDO CD. Main components analysis in the software assistat-statistical attendance. World congress on computers in agriculture. 7, 22–24, 2009.

SILVA, L. M., ALQUINI, Y., & CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botanica Brasilica**, 19(1), 183-194, 2005.

STREIT, N. M., CANTERLE, L. P., DO CANTO, M. W., & HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas. **Ciência Rural**, 35(3), 2005.

SZUTT, A; DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA, A E SPOREK, M. Evaluation of chemical composition of essential oils derived from different *Pelargonium* species leaves. **Ecological Chemistry and Engineering**, 26(4), 807-816, 2019 a.

SZUTT, A.; DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA, A. Chlorophyll content in senescent leaves of *Pelargonium graveolens*. **Proceedings of ECOpole**, 13, 2019 b.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4th ed.. Artmed, Porto Alegre. 715 p., 2009.

VAFADAR, F., AMOOAGHAIE, R., OTROSHY, M. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. **Journal of Plant Interactions**, 9(1), 128-136, 2014.

ZHANG, Y. S., HUANG, X., CHEN, Y. F. Experimental course of plant physiology. **Higher Education Press**, Beijing, pp. 34-135, 2009.